



**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



YÜKSEK LİSANS TEZİ

**ANTİMİKROBİYAL KATKILI SOĞUTMA KULESİ YAPI
MALZEMESİNDE BİYOFİLM OLUŞUMUNUN İZLENMESİ**

Seval BAL

Biyoloji Anabilim Dalı

Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji Programı

DANIŞMAN

Dr. Öğr. Üyesi Nazmiye Özlem ŞANLI

Mayıs, 2018

İSTANBUL

Bu çalışma, 29.05.2018 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı
, Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji Programında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

Dr. Öğr. Üyesi Nazmiye Özlem ŞANLI(Danışman)
İstanbul Üniversitesi
Fen Fakültesi

Prof. Dr. Yusuf Ziya MENCELOĞLU
Sabancı Üniversitesi
Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi

Prof. Dr. Ayten ERDEM
İstanbul Üniversitesi
Fen Fakültesi

Prof. Dr. Murat BELİVERMİŞ
İstanbul Üniversitesi
Fen Fakültesi

Doç. Dr. Nihal DOĞRUÖZ GÜNGÖR
İstanbul Üniversitesi
Fen Fakültesi



20.04.2016 tarihli Resmi Gazete’de yayımlanan Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin 9/2 ve 22/2 maddeleri gereğince; Bu Lisansüstü teze, İstanbul Üniversitesi’nin aboneli olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Fen Bilimleri Enstitüsü’nün belirlemiş olduğu ölçütlere uygun rapor alınmıştır.

Bu tez, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliğinin 21280 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

Bu tez, 21280 numaralı İstanbul Üniversitesi BAP Birimi projesi ile desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimim boyunca danışmanlığımı üstlenen, hayat tecrübesi ve bilgileriyle bana yol gösteren, sabrını ve desteğini esirgemeyen değerli hocam Nazmiye Özlem ŞANLI'ya

Tez çalışmasında kullanılan antibakteriyel bileşiğin bilimsel sahibi olan ve çalışmaların devam etmesi için desteğini esirgemeyen Sabancı Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi öğretim üyesi Prof. Dr. Yusuf Ziya MENCELOĞLU'na,

Desteklerini esirgemeyen Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Ayten ERDEM'e ve Dr.Öğr. Üyesi Elif Özlem ARSLAN AYDOĞDU'ya,

Sabancı Üniversitesi'nde yürüttüğüm analizlerde bana destek olan Turgay GÖNÜL ve Merve Senem SEVEN'e,

Deney verilerinin istatistiksel analizinde yardımcı olan Araş. Gör. Dr. Emre YEMİŞKEN'e ve tez deneyleri süresince desteğini esirgemeyen bütün hocalarıma,

Tez çalışmasında kullanılan malzemenin teminini sağlayan Fibrosan C.T.P. Sanayi Aş. Ltd. Şirketi'ne,

Tez çalışmasında kullanılan antibakteriyel bileşiğin teminini sağlayan Nanotego Şirketi'ne,

Yüksek lisans eğitimim boyunca karşılaştığım bütün zorluklarda manen yanımda olan Duygu ARSLAN, Funda YEŞİLKAYA, Ezgi Can ÇINAR, Ercan ÇINAR, Hasan Mert AKKUTAY, Koray YALÇINBAŞ, Haydar ŞAHİN, Ercan SIKDOKUR, Eren YILDIRIM, Mert KESİKTAŞ'a,

Tez deneylerim sırasında ellerinden gelen bütün desteği veren Jale Nil GÜLSOY'a, Rasim PINARBAŞI'na, Tansu MUŞTU'ya,

Hayatım boyunca her zaman yanımda olan ve en büyük destekçim güzel aileme sonsuz teşekkür ederim.

Mayıs 2018

Seval BAL

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
ŞEKİL LİSTESİ	viii
TABLO LİSTESİ.....	ix
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ.....	x
ÖZET	xi
SUMMARY	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL KISIMLAR.....	3
2.1. SOĞUTMA KULESİ TANIMI VE <i>LEGIONELLA PNEUMOPHILA</i> İLİŞKİSİ	3
2.2. SOĞUTMA KULESİNDE BİYOFİLM OLUŞUMU.....	7
2.3. BİYOFİLM OLUŞUMUNU ENGELLEMEDE KULLANILAN YÖNTEMLER	9
2.3.1. Biyofilm Oluşumunu Önlemede Kullanılan Fiziksel Yöntemler	9
2.3.2. Biyofilm Oluşumunu Önlemede Kullanılan Kimyasal Yöntemler	10
2.3.2.1. UV ile dezenfeksiyon	11
2.3.2.2. Gümüş- Bakır İyonizasyonu	11
2.3.2.3. Okside Edici Biyositler	12
2.3.2.4. Okside Edici Olmayan Biyositler	13
3. MALZEME VE YÖNTEM.....	17
3.1. ETKİNLİĞİ TEST EDİLEN BİYOSİT VE HAZIRLANIŞI	17
3.2. TEST SUŞLARI VE HAZIRLANIŞI	17
3.3. BİYOSİT ÇÖZELTİSİNİN <i>LEGIONELLA PNEUMOPHILA</i> BAKTERİSİNE KARŞI ANTİBAKTERİYEL ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ	17
3.3.1. Antimikrobiyal Bileşiğin Minimum İnhibitör Konsantrasyonunun (MİK) ve Minimum Bakterisidal Konsantrasyonunun (MBK) Belirlenmesi	17
3.3.2. Süspansiyon Halindeki <i>L. pneumophila</i> Üzerinde Biyositin Etkisinin Değerlendirilmesi	18
3.3.2.1. ASTM E645-13 Test Metodu	18
3.3.2.2. BS EN 13623:2010 Test Metodu	19
3.4. SİLQUAT KATKILI CAM ELYAF TAKVİYELİ (CTP) LEVHALARIN ANTİBAKTERİYEL AKTİVİTESİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ.....	19

3.5. SİLQUAT KATKILI CTP LEVHALARIN MODEL SİSTEM KOŞULLARINDA ANTİBAKTERİYEL AKTİVİTESİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ.....	20
3.5.1. Soğutma Kulesi Model Sisteminin Tasarımı ve Temizlenmesi	20
3.5.2. CTP Levhaların Hazırlanması ve Antibakteriyel Özellik Kazandırılması	21
3.5.3. Soğutma Kulesi Model Sistem Deney Düzeneğinin Hazırlanması	21
3.6. MODEL SİSTEMDEKİ BAKTERİLERİN AYLIK OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ.....	22
3.6.1. Bakteriyolojik Analiz	22
3.6.1.1. Sistem Suyunun Bakteriyolojik Analizi	23
3.6.1.2. SilQUAT Katkılı CTP Kuponlar Üzerindeki Biyofilmin Bakteriyolojik Analizi	23
3.6.2. Canlı/Ölü Boyama Yöntemi ile Biyofilm Örneklerindeki Bakteri Sayısının Tespiti	24
3.6.3. ATP Biyoluminesans Yöntemi ile Toplam ve Serbest ATP Miktarlarının Belirlenmesi	24
3.6.4. Model Sistem Suyunun Toplam Çözünmüş Madde Miktarı, Çözünmüş Oksijen Miktarı ve pH Değerlerinin Belirlenmesi.....	24
3.7. SİLQUAT BİLEŞİĞİ UYGULANMIŞ CTP LEVHALARININ ANTİBAKTERİYEL AKTİVİTESİNİN KALICILIĞININ TEST EDİLMESİ	25
3.7.1. Environmental Protection Agency (EPA) #01-1A Protokolüne Göre Aşındırma Testlerinin ve JIS Yönteminin Uygulanması.....	25
3.7.2. Taramalı Elektron Mikroskopu (TEM) Görüntülemesi için Örneklerin Hazırlanması	26
3.8. İSTATİSTİKSEL ANALİZ	26
3.9. DENEYLERDE KULLANILAN BESİYERLERİ VE KİMYASALLAR	27
3.9.1. Deneylerde Kullanılan Besiyerleri	27
3.9.1.1. Nutrient Agar	27
3.9.1.2. R2A Agar	27
3.9.1.3. Buffered Chorcoal Yeast Agar (BCYE) Besiyeri	28
3.9.1.4. BCYE Supplement Çözeltisi	28
3.9.1.5. BYE Broth	28
3.9.1.6. Nutrient Broth	29
3.9.1.7. Plate Count Agar	29
3.9.2. SCDLP (Soybean Casein Lecithin Polysorbate 80 Medium) Broth	29
3.9.3. Mc Farland Çözeltisi	30
4. BULGULAR.....	31

4.1. BİYOSİT ÇÖZELTİSİNİN <i>L. PNEUMOPHILA</i> BAKTERİSİNE KARŞI ANTİBAKTERİYEL ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ	31
4.1.1. Antimikrobiyal Bileşimin Minimum İnhibitör Konsantrasyonunun ve Minimum Bakterisidal Konsantrasyonun Belirlenmesi.....	31
4.1.2. Antimikrobiyal Bileşimin Farklı Temas Sürelerinde Etkinliğinin Belirlenmesi.....	31
4.1.2.1. ASTM E645- 13 Test Metoduna göre Bakteri Sayısının Belirlenmesi.....	31
4.1.2.2. BS EN 13623:2010 Test Metoduna göre Bakteri Sayısının Belirlenmesi.....	32
4.2. SİLQUAT KAPLI CTP LEVHALARIN ANTİBAKTERİYEL AKTİVİTESİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ.....	33
4.3. MODEL SİSTEMDE BULUNAN HETEROTROFİK BAKTERİLERİN VE <i>L. PNEUMOPHILA</i> 'NIN AYLIK OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ	35
4.3.1. Model Sistem Suyunun Bakteriyolojik Analizi.....	35
4.3.2. Model Sistem Biyofilm Örneklerinde Bulunan Heterotrofik Bakteri ve <i>L. pneumophila</i> Sayısının Aylık Olarak Değerlendirilmesi.....	36
4.4. CANLI/ÖLÜ BOYAMA YÖNTEMİ İLE BAKTERİ SAYILARININ BELİRLENMESİ	38
4.5. BİYOFİLM VE PLANKTONİK ÖRNEKLERİNDE BULUNAN TOPLAM VE SERBEST ATP MİKTARININ AYLIK DEĞERLENDİRİLMESİ	40
4.6. MODEL SİSTEM SUYUNDAKİ TOPLAM ÇÖZÜNÜŞ MADDE MİKTARININ, ÇÖZÜNÜŞ OKSİJEN MİKTARININ VE PH DEĞERLERİNİN ÖLÇÜLMESİ.....	41
4.7. AŞINDIRMA YAPILMIŞ ÖRNEKLERDE KALICI ANTİBAKTERİYEL ETKİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ.....	42
4.7.1. Aşındırma Yapılmış Örneklerde Heterotrofik Bakteri ve <i>L. pneumophila</i> 'nın Aylık Olarak Değerlendirilmesi.....	43
4.7.2. Aşındırma Yapılmış Örneklerdeki Canlı/Ölü Bakteri Sayısının Değerlendirilmesi	44
4.7.3. Aşındırma Yapılmış Örneklerdeki Toplam ve Serbest ATP Miktarının Tayini.....	46
4.8. TARAMALI ELEKTRON MİKROSKOBU İLE BİYOFİLM ANALİZİ.....	46
4.9. İSTATİSTİKSEL ANALİZ	48
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	50
KAYNAKLAR.....	57
ÖZGEÇMİŞ	66

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa No
Şekil 2.1: Açık devre kule (Çoban, 2011).	3
Şekil 2.2: Kapalı devre kule (Çoban, 2011).	3
Şekil 2.3: Biyofilm oluşumunun aşamaları (Ferreira ve diğ., 2010).....	8
Şekil 3.1: Model sistem soğutma kulesi diyagramı.	21
Şekil 3.2: Model sistem içerisine yerleştirilmiş deney ve kontrol kuponları.	22
Şekil 3.3: Gardco DV10 aşındırma cihazı.....	25
Şekil 4.1: Model sistem suyunda bulunan heterotrofik bakteri ve <i>L. pneumophila</i> sayısının logaritmik değerleri	36
Şekil 4.2: Aşındırma yapılmamış örneklerde bulunan heterotrofik bakterilerin ve <i>L. pneumophila</i> sayısının log cinsinden düşüş değerleri.	37
Şekil 4.3: Aşındırma yapılmamış örneklerde HBS ve <i>L. pneumophila</i> sayısının % cinsinden düşüşü.....	38
Şekil 4.4: Aşındırma yapılmamış örneklerden yapılan canlı/ölü floresan boyama.....	40
Şekil 4.5: Aşındırma yapılmış örneklerde bulunan heterotrofik bakterilerin ve <i>L. pneumophila</i> sayısının log cinsinden değerleri.	43
Şekil 4.6: Aşındırma yapılmış örneklerden yapılan canlı/ölü floresan boyama.	45
Şekil 4.7: Aşındırma yapılmamış örnekler TEM görüntüleri.	47
Şekil 4.8: Aşındırma yapılmış örnekler TEM görüntüleri.	48

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 2.1: Soğutma kulesindeki mikroorganizmalar ve yol açtığı problemler (Ludensky, 2004).....	5
Tablo 4.1: ASTM E645-13 metoduna göre <i>L. pneumophila</i> sayısındaki log düşüş.....	31
Tablo 4.2: BS EN 12623: 2010 metodunda sert su ile yapılan deneylerde <i>L. pneumophila</i> sayısındaki log düşüş.....	32
Tablo 4.3: BS EN 13623: 2010 metodunda steril çeşme suyu ile yapılan deneylerde <i>L. pneumophila</i> sayısındaki log düşüş.....	32
Tablo 4.4: Spreyleme ile SilQUAT bileşiği uygulanmış CTP levhaların <i>S. aureus</i> ATCC 538 bakterisine karşı antibakteriyel aktivitesi.....	33
Tablo 4.5: Spreyleme ile SilQUAT bileşiği uygulanmış CTP levhaların <i>E. coli</i> ATCC 8739 bakterisine karşı antibakteriyel aktivitesi.....	33
Tablo 4.6: Spreyleme ile SilQUAT bileşiği uygulanmış CTP levhaların <i>L. pneumophila</i> ATCC 33152 bakterisine karşı antibakteriyel aktivitesi.....	34
Tablo 4.7: SilQUAT bileşiği uygulanmış reçine kaplamalı CTP örneklerinin <i>L. pneumophila</i> ATCC 33152 bakterisine karşı etkinliği.....	34
Tablo 4.8: SilQUAT bileşiği uygulanmış jel kaplamalı CTP örneklerinin <i>L. pneumophila</i> ATCC 33152 bakterisine karşı etkinliği.....	35
Tablo 4.9: Sistemde bulunan örneklerdeki toplam ve canlı mikroorganizma sayısı.....	39
Tablo 4.10: Biyofilm ve planktonik örneklerdeki toplam ve serbest ATP değerleri.....	41
Tablo 4.11: Model sistem suyundaki toplam çözünmüş madde miktarı, çözünmüş oksijen miktarı ve pH değerinin aylık ölçümü.....	42
Tablo 4.12: Aşındırma yapılmış örneklerde HBS ve <i>L. pneumophila</i> sayısının R değeri ve % cinsinden düşüşü.....	44
Tablo 4.13: Aşındırma yapılmış örneklerdeki toplam ve canlı bakteri sinyal sayısı.....	44
Tablo 4.14: Aşındırma yapılmış örneklerdeki toplam ve serbest ATP miktarı.....	46

SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Simgeler

Açıklama

μl	: Mikrolitre
cm	: Santimetre
mg/L	: Miligram/Litre
ml	: Mililitre
p	: Pearson Katsayısı
ppm	: Parts Per Million (milyonda bir)
rpm	: Revolutions Per Minute (Dakikadaki devir sayısı)

Kısaltmalar

Açıklama

ASTM	: American Society for Testing and Materials (Amerikan Test ve Malzeme Topluluğu)
ATCC	: American Type Culture Collection (Amerikan Tipi Kültür Koleksiyonu)
ATP	: Adenozin trifosfat
BS EN	: British Standard European Norm (İngiliz Standardı- Avrupa Standardı)
CTP	: Cam Elyaf Takviyeli Polyester
EPA	: Environmental Protection Agency (Çevre Koruma Ajansı)
EPS	: Ekzopolisakkarit
HBS	: Heterotrofik Bakteri Sayısı (Heterotrofik Plate Count)
JIS	: Japanese Industrial Standard (Japon Endüstriyel Standardı)
KOB	: Koloni Oluşturan Birim
MBK	: Minimum Bakterisidal Konsantrasyon
MIC	: Mikrobiyal İndüklenen Korozyon
MİK	: Minimum İnhibitör Konsantrasyon
RLU	: Relative Light Unite (Bağıl Işık Birimi)
SCDLP	: Soybean Casein Lecithin Polysorbate 80 Medium
UV	: Ultraviyole
VBNC	: Viable but Non Culturable (Yaşayan fakat Kültüre Edilemeyen)

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ANTİMİKROBİYAL KATKILI SOĞUTMA KULESİ YAPI MALZEMESİNDE BİYOFİLM OLUŞUMUNUN İZLENMESİ

Seval BAL

İstanbul Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Nazmiye Özlem ŞANLI

Soğutma kuleleri endüstride merkezi klimalar, telekomünikasyon ünitesi gibi cihaz ya da sistemlerin sıcaklığının düşürülmesi, enerji ve suyun verimliliğinin artırılması amacıyla kullanılan ünitelerdir. Soğutma kulelerinin hava ile teması, tamamlama suyundan sisteme gelen organik/inorganik materyaller ve ıslak yüzeyleri, *Legionella pneumophila* ve diğer bakterilerin üremesi için uygun ortam sağlamaktadır.

Soğutma kulesi gibi kısıtlı besininin olduğu ortamlarda bulunan mikroorganizmalar, biyofilm adı verilen bir tabaka oluşturmaktadırlar. Potansiyel patojenik organizmaları kontrol etmek ve biyofaulingi en aza indirmek için fiziksel ve kimyasal dezenfeksiyon metotları uygulanmaktadır. Ancak bu yöntemler tek başlarına tam anlamıyla etkili olamazken yanlış kullanımda antimikrobiyal direnç, korozyon, patojen bulaşması, suyun deşarj edildiği ortamda sekonder kirlilik oluşturma gibi riskleri doğurmaktadır.

Bu yöntemlere alternatif olarak, ilk andan itibaren biyofauling oluşmasını ve biyofilmin tutunmasını önlemek üzere yüzeyler modifiye edilebilmektedir.

Çalışmamızda soğutma kulesi yapı malzemesi olarak da kullanılan cam elyaf takviyeli polyeşter (CTP) levhalara kuaternar amonyum bileşigi olan SilQUAT (3-(trimethoxysilyl)-

propyl, cocodimethylammonium chloride) bileşigi uygulanarak antibakteriyel özellik kazandırılmıştır.

Biyofilmde, erken kolonizasyondan olgun biyofilme geçerken meydana gelen fizyolojik ve metabolik değişiklikler, mikroorganizmaların antimikrobiyallere hassasiyetini etkileyebileceği için biyofilm 6 ay süresince aylık olarak incelenmiştir.

Model sisteme, *Legionella pneumophila* ATCC 33152 standart suşu aşılanmış, her ay kuponların yüzeyindeki biyofilm ve sistemdeki su örnekleri alınıp heterotrofik bakteri sayısı ve *Legionella* varlığı, (i) klasik plak yöntemi, (ii) kültürde üremeyen ancak metabolik aktiviteleri devam eden bakterileri tespit edebilmek için canlı/ölü floresan boyama yöntemi ve (iii) suda ve biyofilmde bulunan toplam-serbest ATP miktarı ölçümü yöntemi ile değerlendirme yapılmıştır. CTP levhalara uygulanmış SilQUAT bileşiğinin kalıcılığını test etmek için, modifiye edilmiş EPA#01-1A protokolüne göre levhalara aşındırma yapılmıştır. Aşındırma işlemi sonrasında da kültür, özel floresan yöntemi ve ATP ölçümü yapılmış, aşındırma yapılmış ve yapılmamış örneklerdeki bakteri sayısı kıyaslanmıştır.

Antibakteriyel etkinlik testlerinin sonucunda SilQUAT kaplı CTP levhaların heterotrofik bakteriler ve *Legionella* bakterisine karşı güçlü antibakteriyel etki gösterdiği belirlenmiştir. 6 ay sonunda bileşiğin açık uçları biyofilm tabakası ile kaplandığı için etkide azalma olmuş (% 95), ancak aşındırma yapılmış örneklerde, antibakteriyel uçların reaktif olduğu ve antibakteriyel etkinin 6 ay boyunca korunduğu (% 99,90) belirlenmiştir. Canlı/ölü floresan boyama yöntemi ve ATP miktar ölçümü sonuçları klasik plak yöntemi sonuçlarına paralellik göstermiştir.

Kolmogorov-Smirnov analizine göre, deneysel veri normal dağılım göstermiştir. Antibakteriyel ve kontrol CTP levhaları arasında bakteri sayısı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu belirlenmiştir ($p < 0,05$). Aşındırma yapılmış ve yapılmamış örnekler arasındaki farkı değerlendirmek için t testi uygulanmış, heterotrofik bakteri ve % canlı oranları için p değeri $< 0,05$; ATP ve *Legionella* için p değeri $> 0,05$ olarak hesaplanmıştır. Test metodları arasında da güçlü pozitif korelasyon olduğu belirlenmiştir ($r > 0$).

Biyofilm tabakasının kaynağında engellenmesi ile sistemde oluşturacağı hasarlar, enerji kayıpları ve patojen bulaşma riski minimuma indirgenebilecektir. Yanı sıra, fazla biyosit kullanımının neden olduğu korozyon ve sekonder çevre kirliliğinde azalma, dolayısıyla ekonomik maliyetin düşmesi ve kamuya/çevreye olan zararın en aza indirgenmesi gibi indirekt avantajlar da söz konusu olacaktır. Bu bakımdan, antibakteriyel aktivitesi ve kalıcılığı doğrulanmış SilQUAT kaplı CTP levhaların, biyofaulingin ilk andan itibaren engellenmesinde saha uygulamalarında kullanımı önerilebilir.

Mayıs 2018, 81 sayfa.

Anahtar kelimeler: Soğutma kulesi, *L. pneumophila*, biyofilm, Cam elyaf takviyeli polyester, SilQUAT

SUMMARY

M.Sc. THESIS

MONITORING OF BIOFILM FORMATION ON ANTIMICROBIAL TREATED COOLING TOWER CONSTRUCTION MATERIALS

Seval BAL

İstanbul University

Institute of Graduate Studies in Science and Engineering

Department of Biology

Supervisor : Assist. Prof. Dr. Nazmiye Özlem ŞANLI

Cooling towers are used for reducing temperature and increasing water and energy efficiency of devices or systems such as central air-conditioning systems or telecommunication units in industry. The cooling towers provide suitable environments for the growth of *Legionella pneumophila* and other bacteria, since contacting with the air, containing wet surfaces, organic/inorganic materials originating from the makeup water.

Microorganisms form a layer called biofilm in environments with limited nutrients such as cooling towers. Physical and chemical disinfection methods are applied to control potential pathogenic organisms and to reduce biofouling. However, while these methods can not be effective on their own, in the misuse, they may cause risks such as antimicrobial resistance, corrosion, pathogen transmission and secondary pollution in the environment where water is discharged.

As an alternative to these methods, the surfaces can be modified to prevent biofouling and biofilm adhesion from the first instance.

In our study, glass fiber reinforced polyester (GFRP) panels which are also used as cooling tower building material, have been gained antibacterial activity by applying SilQUAT (3-(trimethoxysilyl)-propyl, cocodimethylammonium chloride) which is a quaternary ammonium compound.

Since the physiological and metabolic changes that occur as the biofilm matures may affect the susceptibility of microorganisms to antimicrobials, therefore biofilm has been examined monthly for 6 months.

Legionella pneumophila ATCC 33152 standard strain was inoculated to the model cooling tower system, and the biofilm on the surface of the coupons and the water samples were taken monthly. Samples were evaluated in view of heterotrophic plate counts and the presence of *Legionella* bacteria by (i) conventional culture method, (ii) live-dead fluorescent staining and (iii) total/free ATP level. In order to test the residual antibacterial activity of SilQUAT compound applied GFRP panels were abraded according to modified the EPA # 01-1A protocol. After the abrading process, conventional culture method, live-dead fluorescence staining method and ATP measurement were carried out and bacteria counts of the abraded and non-abraded samples were compared.

According to antibacterial efficacy tests, SilQUAT coated GFRP panels showed strong antibacterial effect against heterotrophic and *Legionella* bacteria. At the end of 6 months period, antibacterial efficacy was reduced (95%) as the open ends of the compound were covered with the biofilm layer. However, it has been determined that, antibacterial activity was preserved for 6 months (99.9%), in abraded samples, due to reactivation of the antibacterial ends of the compound. The results of live/dead fluorescent staining and ATP quantification were in line with the results of the conventional culture method.

According to the Kolmogorov-Smirnov analysis, the experimental data showed a normal distribution. Antibacterial and control GFRP panels showed significant difference statistically ($p < 0.05$). The t test was used to evaluate the difference between the abraded and non-abraded samples, p value was calculated as < 0.05 and > 0.05 , for heterotrophic bacteria/% live ratios and ATP/*Legionella*, respectively. It was also determined that there was a strong positive correlation between the test methods ($r > 0$).

By preventing the biofilm layer at its source, damage to the system, energy losses and pathogen contamination risks can be minimized. In addition, indirect benefits such as reduced corrosion and secondary environmental pollution caused by the use of excess biocides, thus reducing economic costs and minimizing damage to the public / environment will also be of interest. In this respect, the use of SilQUAT coated GFRP panels that have verified antibacterial activity and durability, can be recommended for field trials from the first moment for the prevention of biofouling.

May 2018, 81 pages.

Keywords: Cooling tower, *L. pneumophila*, biofilm, Glass fiber reinforced polyester, SilQUAT

1. GİRİŞ

Endüstriyel uygulamalarda, enerji ve suyun verimliliğini arttırmak için ısı uzaklaştırma ünitesi olarak soğutma kuleleri kullanılmaktadır. Sistemde ısınan suyun dolgu yüzeyler üzerine püskürtülmesi ve soğutulup sisteme geri verilmesi ilkesiyle çalışan soğutma kuleleri kağıt fabrikaları, çelik fabrikaları, petrokimya üretim tesisleri, klima sistemleri ve telekomünikasyon üniteleri gibi işletmelerde kullanılmaktadır (Şanlı-Yürüdü, 2009; Schlei-Peters ve diğ., 2018).

Soğutma kulelerinin açık ve kapalı sistem olarak iki tipi vardır. Açık soğutma kulelerinde suyun bir kısmı buharlaşarak atmosfere karışır. Bu yüzden sisteme düzenli olarak tamamlama suyu eklenir. Tamamlama suyundan ve atmosferden sisteme mikroorganizma girişi olmaktadır. Bununla birlikte soğutma kulelerinde biriken organik-inorganik maddeler, sistemin sıcaklığı (25-35 °C) ve ıslak yüzeyi mikroorganizmaların gelişimi için ideal ortam sağlar (Şanlı-Yürüdü, 2009; Çoban, 2011; Jia ve diğ., 2017).

Soğutma kulesinde *Legionella pneumophila* başta olmak üzere bakteri, alg, mantar gibi birçok potansiyel patojen mikroorganizma bulunabilmektedir (Ludensky, 2004; Şanlı-Yürüdü, 2009; Whiley, 2016). Soğutma kulesine giren mikroorganizmalar burada biyofilm adı verilen bir tabaka oluştururlar. Biyofilm, kısıtlı besin, biyosit uygulaması gibi zorlu ortam şartlarında mikroorganizmaların hayatta kalmasını sağlayan; polisakkarit ve proteinlerden oluşan hücre dışı polimerik matriks bir yapıdır (Ferreira, 2010).

Soğutma kulelerinde var olan biyofilmi engellemek için çeşitli fiziksel ve kimyasal metotlar uygulanmaktadır. Fiziksel metotlar tek başına dezenfeksiyonun devamlılığını sağlayamadığı gibi, kimyasal yöntemlerde de sadece doğru biyositi kullanmak yeterli gelmemektedir. Yanlış ve yetersiz biyosit kullanımı mikroorganizmaların direnç kazanmasına ve yetersiz kontrole neden olurken, yüksek dozda biyosit kullanımının da korozyon gibi etkilerle ekonomik zararlara yol açtığı bilinmektedir (Yamamoto ve diğ., 1991; Cloete, 2003; Moriarty, 2015).

Biyofilm ile mücadelede fiziksel ve kimyasal metotlar dışında alternatif metotlar denenerek biyolojik kirlilik en baştan engellenmeye çalışılmaktadır. Çalışmamızda, soğutma kulelerinin yapı malzemesi olarak kullanılan cam elyaf takviyeli polyester (CTP) levhalara antibakteriyel özellik kazandırılarak, sistemin ilk kurulum aşamasından itibaren biyofilm oluşumunu önlemek

üzere yüzeylerin modifiye edilmesi hedeflenmiştir. Bu sayede riski kaynağında yok ederek kamu sağlığı problemlerinin ve ekonomik kayıpların minimuma indirilmesi amaçlanmaktadır.

CTP, ortam koşullarına dayanıklı ancak mekanik dayanıklılığı olmayan plastik malzeme ile mekanik dayanımı arttıran cam elyafın bir araya gelmesiyle elde edilen kompozit mühendislik malzemesidir. Bu malzeme, korozyona dayanıklı, düşük maliyetli ve kimyasallara dayanıklı olması yönüyle diğer yapı malzemelerine üstünlük sağlamaktadır (Kara-Uyaner, 2017).

CTP yapı malzemesine SilQUAT antimikrobiyal bileşiği sol-jel işlemi ile uygulanarak malzemeye antibakteriyel özellik kazandırılmıştır (Brinker- Scherer,1990; Menceloğlu ve diğ., 2011).

Kullanılan antimikrobiyal bileşik, kuaternar amonyum yapısına bağlı silan gruplarını içermektedir. Bileşiğin kuaternar amonyum yapısı hücre çeperlerine etki ederek mikroorganizmaları etkisiz hale getirirken, silan grupları cam, seramik, ahşap gibi yapıların yüzeyine kovalent bağlarla tutunmasını sağlamaktadır (Menceloğlu ve diğ., 2011).

Çalışmamızda soğutma kulesi yapı malzemesi olarak kullanılacak CTP levhalara antibakteriyel özellik kazandırılarak model soğutma kulesi sistemi içerisinde 6 ay süresince *Legionella pneumophila* ve diğer bakterilere karşı etkinliği klasik plak (kültür), ATP ölçümü ve özel floresan boyama yöntemi ile değerlendirilmiştir. Ayrıca levhaların antibakteriyel etkinliğinin kalıcılığı EPA #01- 1A protokolü modifiye edilerek uygulanmıştır.

Deney sonuçlarının normal dağılımı, antibakteriyel ve kontrol CTP örneklerinin arasındaki fark, aşındırma yapılmış ve yapılmamış örneklerin sonuçları ve test metotları arasındaki ilişki istatistiksel metotlar kullanılarak değerlendirilmiştir.

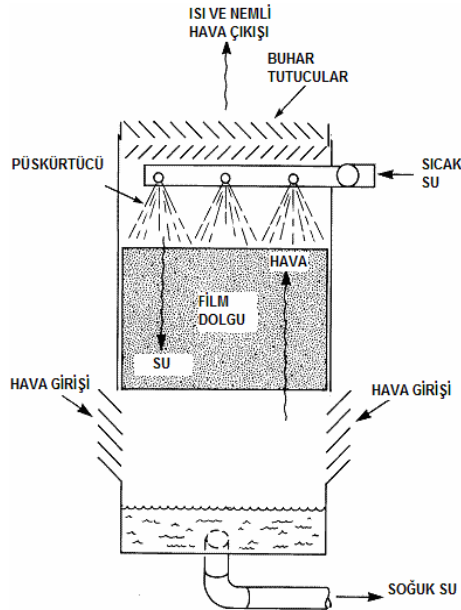
2. GENEL KISIMLAR

2.1. SOĞUTMA KULESİ TANIMI VE *LEGIONELLA PNEUMOPHILA* İLİŞKİSİ

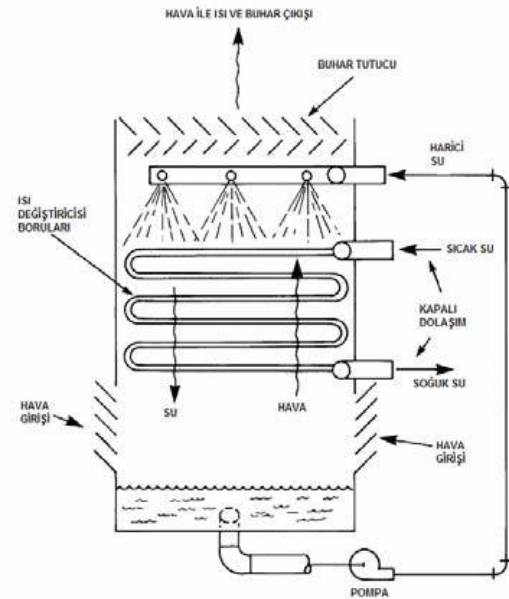
Endüstriyel uygulamalarda enerji ve suyun verimli kullanımı önemlidir. Küresel olarak enerji ve su talebinin artması nedeniyle bu kaynaklar azalmakta ve uygulama maliyeti de artmaktadır. Bunun sonucu olarak endüstriyel üretim süreçlerinde suyun ve enerjinin verimliliğini arttırmak için çaba gösterilmektedir. Verimliliği arttırmak, üretilen ürün sayısı aynı kalırken, kullanılan enerji ve su miktarının azaltılmasıdır. Endüstride su ve enerjinin verimli kullanımında soğutma kuleleri başta gelmektedir (Schlei- Peters ve diğ., 2018).

Soğutma kuleleri, rafineriler, çelik fabrikaları, kağıt fabrikaları, petrokimya üretim tesisleri, klima sistemleri, telekomünikasyon üniteleri gibi endüstriyel işletmelerde sistemde dolaşan suyun sıcaklığının dolgu yüzeyler üzerine püskürtülerek soğutulup sisteme geri verilmesi prensibi ile çalışan ünitelerdir (Bhatia, 2001; Muangnoi ve diğ., 2007; Şanlı-Yürüdü, 2009).

Açık ve kapalı devre olmak üzere soğutma kulelerinin iki tipi bulunmaktadır. Bu iki sistemin de soğutma metotları aynıdır. Tek fark, açık devre soğutma kulesinin ortam havasıyla direkt teması olurken kapalı devre soğutma kulesinde dış ortamla direkt teması engellemek için ek bir ısı değiştirici bulunmasıdır (Schlei- Peters ve diğ., 2018).



Şekil 2.1: Açık devre kule (Çoban, 2011).



Şekil 2.2: Kapalı devre kule (Çoban, 2011).

Açık sistem soğutma kulelerinde hava ile temas nedeniyle suyun bir kısmı buharlaşarak atmosfere katılır. Bu nedenle periyodik olarak eksilen su tamamlanır. Buharlaşma ile su kaybı ve buharlaşan su yerine sisteme besleme suyu ilavesi, giren organik madde/iyon konsantrasyonunu artırır ve korozyona neden olabilir. Aynı zamanda sistemde biriken organik-inorganik maddeler, sistemin 25-35 °C' deki sıcaklığı ve ıslak yüzeyi mikroorganizmaların gelişmesi içinde ideal bir ortam sağlar (Şanlı-Yürüdü, 2009; Çoban, 2011; Jia ve diğ., 2017).

Sistemde tutunan *L. pneumophila* başta olmak üzere bakteri, alg, mantar gibi potansiyel patojen mikroorganizmalar da soğutma kulesinin çalışmasında bazı aksaklıklara neden olur (Tablo 2.1.).



Tablo 2.1: Soğutma kulesindeki mikroorganizmalar ve yol açtığı problemler (Ludensky, 2004).

Mikroorganizma türü	Örnek mikroorganizma	Büyüme koşulları		Buldukları yerler	Neden oldukları problemler
		Sıcaklık (°C)	pH		
<u>BAKTERİ</u>					
<u>Slime oluşturan</u>	<i>Aerobacter</i> <i>Flavobacterium</i> <i>Pseudomonas</i>	15-65	4-9	-Kondansatör tüpler, borular, su hatları	-Isı değişiminde azalma, korozyon
<u>-Spor formda</u>	<i>Bacillus</i>	15-65	5-9	-Kondansatör tüpler,	-Öldürmesi zor olan sporlar üretir
<u>-Filamentöz</u>	<i>Sphaerotilus</i>	15-45	5,5-9		-Soğutma verimini azaltır
<u>-Demir</u>	<i>Gallionella</i> <i>Crenothrix</i> <i>Leptothrix</i>	10-30	5,5-8	-Borular, su hatları	-Balçık katmanı oluşturur
<u>-Aerobik sülfür</u>	<i>Thiobacillus</i>	15-40	1-6	-Borular, su hatları	-Asit üretimi, korozyon
<u>-Sülfat indirgeyen</u>	<i>Desulfovibrio</i>	25-60	4,5-8,8	-Anaerobik bölgeler	-Mikrobiyal kaynaklı korozyon
<u>MANTAR</u>					
<u>-Küf</u>	<i>Aspergillus</i> <i>Penicillium</i> <i>Fusarium</i>			-Soğutma kuleleri	-Soğutma kulesi ahşap malzemesinde çürüme
<u>-Maya</u>	<i>Saccharomyces</i> <i>Torula</i>	0-40	2-8		-Slime oluşumu
<u>-Basidiomycetes</u>	<i>Lenzites</i>				-Ahşap içi çürüme
<u>ALGLER</u>					
<u>-Yeşil algler</u>	<i>Stigeoclonium</i> <i>Ulotrix</i>	15-50			-Su dağıtımında problem
<u>-Mavi-yeşi algler</u>	<i>Oscillatoria</i> <i>Phormidium</i> <i>Lyngbya</i>	20-55	5,5-9,5	-Soğutma Kuleleri	-Soğutma verimini düşürme
<u>-Diatomlar</u>	<i>Nitzshia</i> <i>Navicula</i> <i>Fragilaria</i>	10-45			-Biyosit adsorpsiyonu

Sistemdeki mikroorganizmalar, buharlaşan su ile biyoaerosol olarak (Ludensky, 2004; Şanlı-Yürüdü, 2009; Whiley, 2016) sistemden 6 km kadar uzağa gidebilirler (Nhu- Nguyen, 2006). Biyoaerosoller boyutları 0,001-100 µm aralığında olan küçük partiküllerdir. Ölü veya canlı mikroorganizmaları barındırabilmektedirler ve hafif oldukları için bir ortamdan diğerine rahatça geçebilirler (Kim ve diğ., 2017). Soğutma kuleleri özellikle *L. pneumophila* yayılımı ve salgını ile yakından ilgilidir. Soğutma kulelerinden *L. pneumophila* sıklıkla izole edilmektedir. Türkiye ve dünya çapında soğutma kulelerinden kaynaklı *Legionella* salgınları rapor edilmiştir (Özerol ve diğ. 2006; Carducci ve diğ., 2009; Kalan, 2009; Şanlı-Yürüdü, 2009; While, 2016; Kim ve diğ., 2017).

Ülkemizde *Legionella* salgınlarına önlem almak için 13 Mayıs 2015' te Resmi Gazete'de 29534 sayılı "Lejyoner Hastalığı Kontrol Usul ve Esasları" adlı yönetmelik yayınlanmıştır ve *Legionella* bakterisinin salgın oluşturabileceği belirtilerek otel, hastane gibi soğutma kulesi bulunduran yapıların kontrol altına alınması zorunlu hale getirilmiştir.

Legionella pneumophila, 50'den fazla türü ve 70 tane serogrubu olan *Legionellaceae* ailesinin bir üyesidir. *Legionellaceae* ailesindeki türlerden 20 tanesi hastalık etmenidir ve *Legionella pneumophila* en sık görülen türdür (Kozak ve diğ., 2009).

Doğal ortamları göl, nehir, gölet gibi tatlı su sistemleri olan *Legionella* bakterisi, sıcaklık aralığı 0- 63 °C olan, pH' sı 5 ile 8,5 arasında değişen ve çözünmüş oksijen miktarı 0,2 ve 15 mg/L arasında değişen geniş bir aralıkta canlılığını sürdürebilmektedir (Vural, 2014).

Doğal ortamları dışında sıcak su tesisatı, duş başlıkları, musluklar, kaplıcalar ve soğutma kuleleri gibi su sıcaklığının 28- 50 °C arasında tutulduğu insan yapımı su sistemlerinden de izole edilen (Wéry ve diğ., 2008; Falkinham ve diğ., 2015) *L. pneumophila* Pontiak ateşi ve ölümcül olabilen Lejyoner hastalığına neden olmaktadır (Subbaram ve diğ., 2017).

Pontiac ateşi, pnömoniye sebep olmayan sistemik bir hastalıktır ve soğuk algınlığına benzeyen belirtiler gösterir. Genellikle antibiyotik kullanımına gerek kalmadan 2-5 gün arasında tedavisiz düzelmeye gözlenir (Cunha ve diğ., 2016).

Lejyoner hastalığı, kontamine aerosollerini soluma ile bulaşan yaşamı tehdit eden pnömonik bir hastalıktır. Bakterinin kuluçka süresi 2-14 gün arasındadır. Özellikle sigara ve alkol tüketimi olanlar, sık seyahat edenler, immün sistemi baskılanmış insanlar, 50 yaşın üzeri erkek bireyler

risk altındadır (Şanlı, 2004; Özerol ve diğ., 2006). Son yıllarda *Legionella* bakterisinin insandan insana transfer yoluyla da bulaştığı da raporlanmıştır (Borges ve diğ., 2016; Personnic ve diğ., 2018).

2.2. SOĞUTMA KULESİNDE BİYOFİLM OLUŞUMU

Soğutma kulesi gibi durgun su ortamlarının olduğu alanlarda *L. pneumophila* 'nın da dahil olduğu mikroorganizmalar hayatta kalmak için biyofilm adı verilen bir tabaka oluştururlar (Ferreira ve diğ., 2010).

Biyofilm, mikroorganizmaların kısıtlı ve zorlu ortam şartlarında sıvı veya katı yüzeylerde koruyucu ödev gören, çoğunlukla polisakkarit ve proteinlerden oluşan hücre dışı polimerik matriksden oluşturdukları bir yapıdır. Biyofilm mikroorganizmaların elverişsiz ortamlarda hayatta kalmak için uyguladıkları bir stratejidir (Donlan, 2002; Ferreira ve diğ., 2010).

Biyofilmin oluşumu ve olgunlaşması 5 aşamada gerçekleşir;

1. Geri dönüşümlü tutunma
2. Geri dönüşümsüz tutunma
3. Mikrokoloni oluşumu
4. Biyofilmin olgunlaşması
5. Biyofilmden hücre kopması

Biyofilmin ilk aşaması olan geri dönüşümlü tutunmada, yüzeye tam teması olmayan bakteriler bağımsız hareket edebilmektedir. Bu aşamada tutunma gerçekleşmesi için yüzey yapısı, pH, sıcaklık, besin maddelerinin varlığı gibi etmenler etkili olmaktadır. Hücrelerin bu aşamada ortamdaki uzaklaştırılmaları kolay olmaktadır (Şanlı, 2004; Akan ve Kınık, 2014).

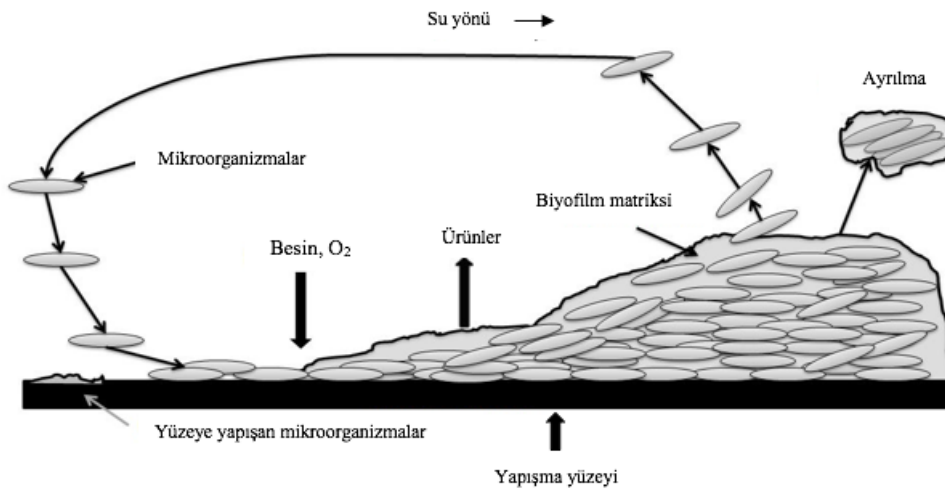
İkinci aşama olan dönüşümsüz tutunmada, bakteri-yüzey arasında var olan zayıf bağlar, bakterilerin kamçı-pili organelleri ve EPS salgılanması ile kalıcı hale dönüşmeye başlar. Yüzeye yapışmayı kolaylaştıran EPS tabakası, glukoz, mannoz, galaktoz gibi homopolisakkarit ve heteropolisakkarit, üronik asit şekerleri ve proteinleri içeren bir yapı olarak metal ve asidik iyonları da bağlayabilmektedir. Bu aşamada mikroorganizmaların yüzeyden koparılması için

etkili dezenfeksiyon yöntemlerinin uygulanması gerekmektedir (Şanlı, 2004; Akan ve Kınık, 2014).

Yüzeyle EPS ile tutunan bakteriler, yüzeyde birikmeye başlarlar. EPS tabakası bakterinin ortam stresine karşı stabil olmasını sağlar. Bölünerek çoğalan mikroorganizmalar polisakkarit yapıda olan glikokalis ile çevrili bir mikrokoloni oluştururlar. Biyofilmde artış oldukça bu polisakkarit matrikste kapsül oluşturan mikroorganizmalarda artış gözlenir (Şanlı, 2004; Akan ve Kınık, 2014).

Bu aşamadan sonra yüzeye tutunup çoğalmaya başlayan mikroorganizmalar yüksek yapıda biyofilm tabakası oluştururlar. Bu yapı içerisinde bulunan mikroorganizmalar, su kanalları, gözenekler ve borucuklar aracılığı ile biyofilm içerisinde besinlerin ulaştırılmasını ve metabolik atıkların uzaklaştırılmasını sağlarlar. Biyofilmin bu şekilde gelişmesi için 10 gün ve üzerinde bir süre gerekmektedir (Şanlı 2004; Akan ve Kınık, 2014).

Olgunlaşan biyofilmde, su akışının artması, enzimatik bozulmalar, ortamda besin maddelerinin azalması, dış etkenler gibi nedenlerle kopmalar meydana gelir. Biyofilm oluşumundaki bu son aşamada hücreler planktonik fazlarına geri dönerler. Bu süreçten sonra dengeye oturan biyofilm tabakası sürekli hale gelir (Şanlı 2004; Akan ve Kınık, 2014).



Şekil 2.3: Biyofilm oluşumunun aşamaları (Ferreira ve diğ., 2010).

Biyofilm tabakası, gıda, biyomedikal, çevre ve endüstri alanlarında birçok probleme neden olan bir yapıdır. Su kirliliğinde de önemli bir sorun olan biyofilm tabakasının en çok görüldüğü yerlerden biri de soğutma kuleleridir. Biyofilm, soğutma kulesinde yüzeyler arasındaki ısı transferini azaltarak enerji kayıplarına ve sistemin çalışmasında aksaklıklara; yüzey elektrokimyasal özelliklerini değiştirerek mikrobiyal olarak indüklenen korozyona (MIC) neden olur. Yüksek ekonomik kayıpların yanı sıra, biyofilm tabakasında *Legionella* gibi patojenlerin varlığı kamu sağlığı açısından da ciddi problemlere yol açar (Türetgen ve diğ., 2012; Di Pippo ve diğ., 2018). Bu nedenlerle biyofilm tabakası en etkili ve ekonomik şekilde yok edilmek istenmektedir.

2.3. BİYOFİLM OLUŞUMUNU ENGELLEMEDE KULLANILAN YÖNTEMLER

Dezenfeksiyon yöntemlerinin sınıflandırılması literatürlerde farklılık göstermektedir. Bazı literatürlerde dezenfeksiyon yöntemleri, uygulama yerine göre yöntemler veya hedef bölge şeklinde sınıflandırılırken bazı literatürlerde de sistemik ve acil durum dezenfeksiyon olarak ayrılır. En genel olarak da kimyasal ve fiziksel dezenfeksiyon sınıflandırması kabul görmektedir (Sedzro ve diğ., 2017).

2.3.1. Biyofilm Oluşumunu Önlemede Kullanılan Fiziksel Yöntemler

Biyofilm oluşumunu engellemek için sıcaklık ve yıkama gibi fiziksel yöntemler uygulanır. *Legionella* ve diğer birçok mikroorganizmanın 60 °C' nin üzerinde yaşayamadığı bilinmektedir (Şanlı, 2004; Sedzro ve diğ., 2017). Süper ısıtma olarak adlandırılan yöntem, su ısıtıcısının sıcaklığının 24 saat boyunca 70 °C'ye yükseltilmesi, çıkışlarda en az 60 °C' ye ulaşarak 30 dakika yıkama yapılması şeklinde uygulanır (Püle, 2016). Ancak, bu tip yöntemlerin en iyileri bile sadece kısa zamanlı iyileştirmeler sağlamaktadır. *Legionella* kolonizasyonu işlemde sonraki haftalar veya aylar içinde tekrar oluşabilir (Muraca ve diğ., 1990; Püle, 2016).

Eski yapılarda, boru hattı içerisinde büyük ölçekli birikim izolator görevi görüp sıcaklıklardan korumasına yardımcı olacağından ek yıkama süresi gerekebilir.

Bunun dışında hazır ısıtma sistemleri, sıcaklığın 88 °C' den daha yüksek derecelere çıkartılıp ani ısıtma yapılarak, sıcak ve soğuk suyun karışması ile istenilen sıcaklığa ulaşılması şeklinde uygulanır (Sedzro ve diğ., 2017; Prussin ve diğ., 2017).

2.3.2. Biyofilm Oluşumunu Önlemede Kullanılan Kimyasal Yöntemler

Biyofilmi ortadan kaldırmak için uygulanan kimyasal yöntemlerde biyosit adı verilen bileşikler kullanılır. Biyosit, içerdiği bir veya birden fazla aktif madde yardımıyla bakteri, küf gibi zararlı olabilecek mikroorganizmaların hücre yapılarına etki ederek üremesini kontrol edici veya öldürücü özellik gösteren kimyasal maddelerdir. Bu kimyasal bileşenler endüstriyel sistemlerde mikrobiyal gelişimin kontrolünde kullanılmaktadır (Şanlı, 2004).

Dezenfeksiyon işleminde biyosidal ürünle uygulanacak programın seçimi önemlidir. Uygulanacak biyosit mikrobiyolojik kontrolü sağlarken güvenlik, çevre sağlığı ve yasalar çerçevesinden de uygun olması gerekmektedir. Uygulanacak kontrol programında en az 3 ana faktörün dikkate alınması gerekmektedir;

1. **Su sistemi:** Soğutma kulesinin tipi, boyutu, sistemin kirlilik seviyesi, mevcut fiziksel durumlar ve soğutma kulesinin hava ile temasıyla birlikte deşarj sıklığı, programlar belirlenmeden önce analiz edilmelidir.
2. **Su kalitesi:** Uygulanacak biyositin aktivitesini etkileyebilecek suyun pH derecesi, sıcaklığı, organik yükü, amonyak miktarı, kireç önleyici ve korozyon inhibitörü gibi parametreleri belirlenmelidir.
3. **Su deşarjı:** Yönetmeliklerle belirlenen deşarj sınırlamaları, biyosit seçimi ve dozlama miktarının belirlenmesinde önemli bir faktördür. Sistemin mikrobiyal yükü, soğutma suyunun stabilitesi, sistemin besleme özelliklerinin belirlenmesini gerektirir (Ludensky, 2004).

Belirlenen programda kullanılacak biyositin de bazı özelliklere sahip olması gerekmektedir. Bu özellikler çevre ve halk sağlığı için önem arz etmektedir. İdeal bir biyositte bulunması gereken özellikler;

- 1- Çevreye ve insana, toksik olmamalıdır,
- 2- Uygulama yöntemi olarak zorlayıcı olmamalıdır,
- 3- Kullanılan biyosit uzun süre etkisini devam ettirebilmelidir,
- 4- Dış etmenlerle etkisini kaybetmemelidir,

- 5- Antimikrobiyal etkisini hızlı bir biçimde göstermelidir,
- 6- Gerekli olduğunda biyosit ortamdan rahatlıkla uzaklaştırılabilmelidir,
- 7- Antimikrobiyal etkisi geniş spektrumlu olmalıdır,
- 8- Suyu eklendiğinde kolay çözünmeli ve homojen dağılmalıdır,
- 9- Dezenfekte edilen alanın yapısal özelliklerine zarar vermemelidir, korozif (aşındırıcı) olmamalıdır,
- 10- Rahatsız edici, yakıcı kokusu olmamalı; mümkünse kokusuz olmalı ve kötü kokuları gidermelidir,
- 11- Kolay ulaşılabilir ve düşük maliyetli olmalıdır,
- 12- Sistemin sıcaklık değişimlerinde var olan antimikrobiyal etkisini kaybetmemelidir,
- 13- Seyreltik halde de mikroorganizmalara etkili olmalıdır,
- 14- Osmotik basıncı arttırıcı ve yüzey gerilimini azaltıcı olmalıdır (Arda, 2000; Yadav ve diğ., 2015).

2.3.2.1. UV ile dezenfeksiyon

Kimyasal eklenmesi olmadığı için su sistemleri dezenfeksiyonunda ilgi çekici bir yöntemdir. UV radyasyonu “timin dimerleri” üretimi yoluyla DNA replikasyonunu engelleyerek bakterileri öldürür (Liu ve diğ., 1995). Bu yöntemin dezavantajı, suyun içinde askıda kalan katı maddeler ve UV lambasının üstündeki birikimlerin işlemin etkisini azaltması, biyofilm tabakasının oluştuğu uzak bölgelere UV ışığının ulaşamamasıdır (Franzin ve diğ., 2002).

2.3.2.2. Gümüş- Bakır İyonizasyonu

Gümüş-bakır içeren iyonizatörler su sisteminin içine kurulur ve suyun içinde elektriksel alan oluşturulur. Pozitif yüklü olan gümüş ve bakır iyonları negatif yüklü olan bakteri hücre duvarıyla elektrostatik bir bağ oluşturur ve hücre duvarının geçirgenliğini bozar (Muraca ve diğ., 1990; Kim ve diğ., 2002). Bu durum protein denatürasyonu ile birlikte hücre lizisine ve ölüme yol açar (Kim ve diğ., 2002).

Gümüş- bakır iyonizasyon sistemleri, pH değeri > 8 olan sistemlerde bakırın çökmesi (Lin ve diğ., 2002), gümüş iyonlarının klor varlığında kompleks oluşturup aktivitesini yitirmesi, korozyon inhibitörü fosfatların bakır-gümüş iyonlarının etkisini azaltması, amip ve bazı patojenlere etkili olmaması (Huang ve diğ., 2008) gibi dezavantajlara sahip olduğu raporlanmıştır (Lin ve diğ., 2011; Püle, 2016; Sedzro ve diğ., 2017).

Biyosit ile dezenfeksiyonda kullanılan kimyasallar okside edici ve okside edici olmayan biyositler olarak sınıflandırılırlar.

2.3.2.3. Okside Edici Biyositler

Klor, hidrojen peroksit, ozon, brom gibi halojen grupları içeren kimyasal ajanlar okside edici biyositler olarak adlandırılırlar. Okside edici biyositler etkinliklerinde seçici değildir, mikroorganizmaların hücre duvarı, hücre sitoplazması, nükleik asitler gibi yapısal materyallerini oksitleyerek hücrelerin ölümüne neden olurlar (Şanlı- Yürüdü, 2009).

Klor ile etkili dezenfeksiyonda sisteme devamlı olarak klor eklenmesi yapılmalıdır. pH seviyesinin 7,5'in altında olduğu su ortamlarında etkili olan klor uygulamasına ara verildiği zaman sistemdeki bakteri seviyesinde tekrar artış olmaktadır (Muraca ve diğ., 1987; Coniglio ve diğ., 2015). Acil durum dezenfeksiyonlarında 20-50 mg/L gibi yüksek dozlarda (Klor şoklaması) kullanılabilen klor, (Şanlı, 2004; Sedzro ve diğ., 2017) korozif etkiye neden olduğu için borularda hasara yol açmaktadır (Geary, 2002; Kool, 2002).

Klor dioksit, alternatif bir biyosit olarak görülmesine rağmen, hızlı yarılanma ömrü, depolanmasının riskli olması (toksik etki) ve demir borularda korozyona neden olması gibi dezavantajlara sahiptir (Şanlı, 2004; Zhang ve diğ., 2008; Sedzro ve diğ., 2017).

Serbest klor ve amonyakın reaksiyona girmesi sonucu oluşan monokloramin klor ve klor dioksit göre daha az oksidan, daha stabil ve etkilidir, biyofilmlere daha iyi sızar (Lee ve diğ., 2011; Lin ve diğ., 2011; Sedzro ve diğ., 2017). Trihalometanları ve diğer dezenfeksiyon yan ürünlerini daha az üretirler (Kirmeyer ve diğ., 2004). Ancak sudaki dezenfeksiyon işleminin yan ürünleri olan organik bileşiklerle tepkimeye girebilir ve işlem sonrası suda kalan yüksek miktarda amonyak ve düşük miktardaki klor nitrifikasyona neden olabilir (Kirmeyer ve diğ., 2004). Nitrifikasyon gerçekleştiğinde, monokloraminin kalıcılığını korumak oldukça zor bir işlemdir (Püle, 2016). Kloraminin ayrıca su sistemlerinde kullanılan kauçuk ve plastik

bileşenlerine etki ederek şişme, deformasyon, çatlama gibi problemlere neden olduğu raporlanmıştır (Kirmeyer ve diğ., 2004).

Korono akım metodu ile oksijen moleküllerinin elektrik akımı içerisinde geçirilmesi ile elde edilen ozon, kısa sürede mikroorganizmaları öldürür. Ancak borular için hasar vericidir ve son derece hızlı yarılanma ömrüne sahiptir. Bu da sistem boyunca etkili konsantrasyonu korumayı zorlaştırır (Oğuzhan- Yıldız ve Yangılar, 2014; Sedzro ve diğ., 2017).

2.3.2.4. Okside Edici Olmayan Biyositler

Okside edici olmayan biyositler aminleri, tiyokarbamatları, heterosiklik ketonları, aldehitleri, tiyosiyanatları, halojenli glikoller, halojenli amidler ve kuaternar amonyum bileşiklerini içerir (Şanlı-Yürüdü, 2009).

Okside edici olmayan biyositler, bakteriyel sporların spor örtülerine, spor çekirdeğine, korteksine; vejetatif bakterilerin sitoplazma, hücre duvarı, membran ve hücre içi bileşiklerine; virüslerin nükleik asitlerine, kapsitlerine, zarflarına, tiyol gruplarına; mantarların hücre duvarlarına, plazma membranlarına, amino gruplarına, DNA ve ribozomlarına etki ederek hücre ölümüne neden olurlar (Şanlı-Yürüdü, 2009). Ancak okside edici biyositlere göre daha pahalıdır ve yavaş etki gösterdikleri için organizmaların biyosite direnç geliştirme durumu söz konusudur (Güvensen- Ekmekcioğlu, 2016).

Biyosit kullanımı; biyofilm oluşması sonucu ısı transferinin düşmesi, pompalama maliyetlerinin yükselmesi ve mikrobiyolojik korozyon sonucu sistemlerde yapısal hasarın meydana gelmesi şeklindeki olumsuz durumları engelleyerek sistemin etkin çalışmasını temin eder. Ancak biyolojik kirliliği (biyofauling) etkin şekilde kontrol etmek için sadece doğru biyosit kullanımı yeterli değildir. Etkinliği doğrulanmış biyosit uygun rejimde uygulanmalı ve uygulanan dezenfeksiyon süreci de mikrobiyolojik analizlerle takip edilmelidir. Yanlış ve yetersiz biyosit kullanımı, sistemlerde yetersiz kontrole, biyosite maruz kalarak antimikrobiallere direnç geliştirmiş mikroorganizma varlığına ve en az biyofaulingın kendisi kadar ciddi ekonomik zarara yol açar. Limitlerin üstünde kullanılacak biyosit dozlarının ise sistemde korozyona neden olarak ekonomik kayıplara sebep olacağı ve suyun kullanıldığı ya da deşarj edildiği ortamdaki canlılar üzerinde olumsuz etkilere yol açacağı unutulmamalıdır (Quigley, 1996; Cloete, 2003).

Diğer yandan, sistematik ve düzenli biyosit uygulamalarının bile biyofilm mücadelesinde kesin çözüm sağlayamadığı bilinmektedir. Biyosit varlığında dahi biyofilm oluşumu devam etmekte, biyofaulingın yol açtığı maddi hasar ve kamu sağlığı riskleri şiddetlenerek ortaya çıkmaktadır (Murata ve diğ., 2007; Türetgen ve diğ., 2012).

Biyofilm oluşumunun tamamen engellenmesi mümkün olmadığından biyofilm tabakası ile mücadelede tek seçenek korunma ve riskin minimize edilmesidir. Bu nedenle, yanlış ve yetersiz biyosit kullanımından kaynaklanan olumsuzlukları bertaraf etmek için, biyofauling sorununu çözmeye alternatif yollar aranmaktadır. Bu yollardan biri de daha ilk andan itibaren biyofauling oluşmasını ve biyofilmin tutunmasını önlemek üzere yüzeylerin modifiye edilmesidir. Yüzeylerin bir veya daha fazla biyosidal ürünle işlem görmesi sonucu, yüzeylere antimikrobiyal özellik kazandırılması son yıllarda endüstride yoğun ilgi görmektedir. Antimikrobiyal yüzeylerin eldesinde yüzeye tutunma, nanoişlemler, spreyleme, sol-jel tekniği gibi metotlar uygulanmaktadır (Murata ve diğ., 2007; De Kwaadsteniet ve diğ., 2011).

Endüstride yaygın kullanıma sahip soğutma kulelerinin yapı malzemesi olarak ahşap, galvanizli çelik, paslanmaz çelik ve CTP (Cam Elyafı Takviyeli Polyester) kullanılmaktadır. Cam elyaf takviyeli polyester, ortam koşullarına dayanıklı, esnek ama yeterli mekanik dayanıma sahip olmayan polyester ile yüksek mekanik dayanımlı cam elyafının bir araya getirilmesi ile elde edilen üstün nitelikli bir kompozit mühendislik malzemesidir. Bu malzeme, yüksek korozyon dayanımı, düşük kurulum maliyeti, kimyasallara dayanıklı olması gibi özelliklerinden dolayı diğer yapı malzemelerine göre avantaj sağlamaktadır (Kara-Uyaner, 2017).

Çalışmamızda, daha önce tarafımızca yürütülen in vitro deneylerde *Staphylococcus aureus*, *Legionella pneumophila*, *Klebsiella pneumophila* ve *Escherichia coli* gibi farklı bakterilere karşı antibakteriyel aktivitesi doğrulanmış SilQUAT bileşiği CTP yüzeylere sol-jel işlemi ile uygulanmıştır (yayınlanmamış veri).

Sol-jel işlemi, biyomateryaller, antikorozyf, antimikrobiyal ve antirefleksif kaplamalarda nanoteknolojiler tarafından yaygın olarak kullanılmaktadır. Daldırma, püskürtme gibi yöntemlerle uygulanan sol jel teknolojisi, sıvı faz içinde bulunan katı taneciklerden oluşan kolloidal süspansiyonların (sol) sonrasında jelleşerek (jel) ağ yapıları oluşturması işlemidir (De Kwaadsteniet ve diğ., 2011).

CTP levhalara uygulanan SilQUAT bileşiminin üretiminde ham madde olarak kullanılan tüm kimyasallar 21 gün içinde doğada parçalanabilen ürünler olup kimyasalın kendisi Uluslararası Çevre Koruma Ajansı (EPA- Environmental Protection Agency) tarafından da çevre ve insan sağlığı açısından risk taşımadığı doğrulanmış ve ticarileştirilmesi için kabul görmüştür (EPA, 2007). Hücre çeperlerine etki ederek çoğalmalarına engel olan kuarternar amonyum bileşiklerinin antimikrobiyal yüzey hazırlanmasında kullanımı ile ilgili birtakım çalışmalar bulunmaktadır (Green ve diğ., 2011). Kullanılan SilQUAT bileşiği, yapısında bulunan kuarternar amonyum bileşiğine bağlı silan grupları sayesinde cam, tekstil, ahşap, seramik gibi her türlü yüzeye kovalent bağlar ile tutunabilmektedir (Menceloğlu ve diğ., 2011). Bu da mevcut kaplama teknolojileri ile karşılaştırıldığında üstünlük sağlamaktadır.

SilQUAT antimikrobiyal bileşiminin uzun hidrofobik ucu lipid membrana etki ederken, pozitif yüklü kuarternar bölgesi hücre membranını parçalayarak bakterilerin ölümüne neden olmaktadır (Şanlı ve diğ., 2017).

Antimikrobiyal yüzeyler üretilirken, kullanılacak materyalin dayanıklılığı, uygulanacak antimikrobiyal bileşimin aktivitesi ve kalıcılığı, bileşimin çevreye ve canlılara toksisitesi gibi özellikleri de dikkate alınmalıdır.

Çalışmamızda kullanılan antibakteriyel özellikteki CTP levhaları model sistem soğutma kulesinde 6 ay bekletilerek biyofilm oluşması sağlanmış, antibakteriyel bileşik uygulanmamış kontrol grubu ile aylık olarak kıyaslanmıştır.

Sistem kirliliğinin doğru bir şekilde değerlendirilmesi için hem suyun hem de suyun temas ettiği yüzeylerdeki biyofilm örneğinin eş zamanlı olarak mikrobiyolojik analizi ve yorumu yapılmalıdır. Biyofilm oluşumunda antibakteriyel malzemenin etkinliğinin tayininde yaygın olarak kültür yöntemi kullanılmaktadır. Ancak kültür yönteminde kültüre edilemeyen bakterilerin tespit edilememesi, sonuçları için uzun süre beklenmesi gibi dezavantajları vardır (Cloete, 2003). Bu nedenle kültür yönteminin yanında alternatif olarak ATP biyoluminesans tekniği, özel floresan boyama yöntemi ve taramalı elektron mikroskopisi de kullanılmıştır.

ATP ölçümü, endüstriyel su sistemlerindeki mikrobiyal aktiviteyi değerlendirmek için kullanılan bir yöntemdir. Tüm canlılarda ortak olan enerji birimi olan ATP hücre ölümüyle birlikte bozunur, bu yüzden ortamdaki biyokütle aktivitesi ile direkt olarak ilişkilidir. Ticari kitler ile toplam ATP ve serbest ATP ölçülebilmektedir. Toplam ATP hücre içindeki ve hücre

ölümüyle hücre dışına salınan ATP' yi ölçerken, serbest ATP hücre ölümünden sonra dışarı salınan ATP miktarı olarak tanımlanır. Toplam ATP ve serbest ATP farkı da örnekteki mikrobiyal ATP değerini verir (Şanlı- Yürüdü, 2009; Abushaban ve diğ., 2017).

Kültür yöntemine alternatif diğer bir test metodu ise floresan boyama yöntemi ile ölü-canlı bakterilerin belirlenmesidir. Bakteriler, besin maddelerinin yokluğu, soğuğa veya biyosite maruz kalma gibi zorlu ortam koşullarında kendilerine özgü bir uyum mekanizması geliştirirler. Bu bakteriler katı besiyerinde koloni oluşturmazlar ancak metabolik aktivitelerine devam ederler. Bu şekilde stres altında kültürde üremeyen bakterilere “yaşayan ancak kültüre edilemeyen bakteriler” (VBNC- Viable but non culturable) denir (Ayaz ve Erol, 2004). Çalışmamızda kültürde üremeyen ancak metabolik aktivitesine devam eden bakteriler canlı/ölü floresan boyama yöntemi tespit edilmiştir.

CTP levhalara uygulanan SilQUAT bileşiğinin kalıcılığı, EPA #01-1A protokolü ve JIS Z2801:2010 metodu modifiye edilerek belirlenmiştir. EPA #01-1A protokolü, gıda ile temas etmeyen gözeneksiz, antibakteriyel madde uygulanmış yüzeylerdeki kalıcı aktiviteyi değerlendirmek üzere hazırlanmış bir metottur. Yöntem, antibakteriyel madde ile işlenmiş yüzeye mikroorganizma süspansiyonu uygulanması, kurutma, spesifik nemli-kuru aşındırma aşamalarını kapsar. Çalışmamızda CTP levhaların yüzeyinde oluşan biyofilm tabakası aşındırma yöntemi ile giderildikten sonra, işlenmiş yüzeyin tekrar biyofilm homojenatı ile teması sağlanmış ve antibakteriyel etkinin kalıcılığı test edilmiştir. Aşındırma yapılmış ve yapılmamış CTP levhalarında oluşan biyofilm tabakası aylık olarak taramalı elektron mikroskobu ile takip edilmiştir.

Deney sonuçlarının dağılımı, aşındırma yapılmamış ve yapılmış CTP levhaların kendi içinde ve birbirleriyle ilişkisi, uygulama metotlarının korelasyon ilişkisi istatistiksel metotlar kullanılarak belirlenmiştir.

Çalışmamızda SilQUAT bileşiği ile işlenmiş antibakteriyel CTP levhalar ile biyofaulingin ilk andan itibaren yok edilmesi amaçlanmıştır.

3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1. ETKİNLİĞİ TEST EDİLEN BİYOSİT VE HAZIRLANIŞI

SilQUAT (3-(trimethoxysilyl)-propyl, cocodimethylammonium chloride) bileşiği model soğutma kulesi materyaline uygulanmadan önce etkin dozun belirlenmesi için, farklı (2000 – 10 mg/L) konsantrasyonları steril distile su ile süspanse edilerek hazırlanmıştır.

3.2. TEST SUŞLARI VE HAZIRLANIŞI

Legionella pneumophila serogrup 1 ATCC 33152 standart suşu *L. pneumophila* için seçici olan Buffered Charcoal Yeast agara ekilip, % 5 CO₂ bulunan 37 °C'lik etüvde 4 gün bekletilip üremesi sağlanmıştır.

Staphylococcus aureus ATCC 6538 ve *Escherichia coli* ATCC 8739 standart suşu Nutrient agar besiyerine ekilerek 37 °C'lik etüvde 24 saat bekletilerek üretilmiştir.

3.3. BİYOSİT ÇÖZELTİSİNİN *LEGIONELLA PNEUMOPHILA* BAKTERİSİNE KARŞI ANTİBAKTERİYEL ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

3.3.1. Antimikrobiyal Bileşiğin Minimum İnhibitör Konsantrasyonunun (MİK) ve Minimum Bakterisidal Konsantrasyonunun (MBK) Belirlenmesi

Antimikrobiyal bileşiğin en düşük etkin dozunun belirlenmesi için minimum inhibitör (üremeyi durdurucu) [MİK] ve minimum bakterisidal (öldürücü) konsantrasyonları [MBK] sıvı besiyerinde sulandırma yöntemi uygulanarak tespit edilmiştir (Abedon, 2011; Huband ve diğ., 2015).

Bakteri kültürü süspanسیونları, Mc Farland'ın 1 numaralı standardına göre canlı bakteri sayısı 3×10^8 kob/ml olacak şekilde steril çeşme suyunda süspanse edilip turbidimetrik olarak hazırlanmıştır. Hazırlanan süspanسیون, buffered yeast extract broth (BYEB) içerisinde 1/10 sulandırma yapılarak kullanılmıştır (Şanlı, 2004; Mallegol ve diğ., 2014).

Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan SilQUAT bileşiği süspanسیونları steril boş tüplere dağıtılmış ve üzerlerine son konsantrasyonu 10^6 kob/ml olacak şekilde eşit hacimde bakteri süspanسیونu eklenmiştir (1:1). Ayrıca pozitif kontrol (% 100 biyosit) ve negatif kontrol

(bakteri süspansiyonu) örnekleri de hazırlanmıştır. Deney tüpleri 160 rpm'de 37 °C'de 72- 96 saat bekletilmiştir (Ma ve diğ., 2017).

Süre sonunda tüplerde bulanıklık olup olmadığı gözlenerek, bulanıklık olmayan en düşük konsanstrasyon MİK değeri olarak belirlenmiştir.

Bulanıklık olmayan tüplerden Buffered Charcoal Yeast Agar (BCYE) agara 10 µl damlatma ekim yapılmış ve % 5 CO₂'li etüvde 37 °C' de 24-96 saat bekletilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda üreme görülmeyen en düşük konsanstrasyon MBK değeri olarak belirlenmiştir (Mozirandi ve Mukanganyama, 2017).

3.3.2. Süspansiyon Halindeki *L. pneumophila* Üzerinde Biyositin Etkisinin Değerlendirilmesi

Antimikrobiyal bileşiğin belirlenen MİK-MBK değerleri arasındaki 5 farklı dozunun, ASTM E645-13 ve BS EN 13623:2010 test metotları ile farklı temas sürelerindeki etkinliği test edilmiştir (ASTM E645-13; BS EN 13623:2010; Şanlı-Yürüdü, 2016).

3.3.2.1. ASTM E645-13 Test Metodu

Bu test metodunda MİK-MBK değerleri arasında belirlenen 5 etkin dozun farklı temas sürelerindeki aktivitesi araştırılmıştır. Biyosit çözeltisine son konsantrasyonu 1-5x10⁵ kob/ml olacak şekilde *L. pneumophila* süspansiyonu eklenip ve 150 rpm'de 37° C'lik çalkalamalı inkübatöre yerleştirilmiştir (Şanlı- Yürüdü ve diğ., 2007). 0, 1, 3 ve 24 saatlik temas süreleri sonunda Biyosit-bakteri süspansiyonlarından 1 ml alınıp 9 ml nötralize edici (% 0,4 sodyum dodesil sülfat) çözeltisine aktarılmıştır (Şanlı-Yürüdü, 2016). Nötralize edicide 5 dakika bekletilen deney örneklerinden seri dilüsyon yapıp 100 µl alınarak BCYE besiyerine ekilip % 5 CO₂'li 37 °C' lik etüvde 7 gün bekletildikten sonra oluşan koloniler, koloni sayım cihazında sayılmıştır (aCoLyte, Synbiosis). Deneyler 3 tekrarlı yapılmıştır.

Bakteri sayısındaki logaritmik düşüş, aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır:

$$\log \text{ düşüş} = \log (B) - \log (A)$$

A: Biyosit eklenmemiş (kontrol) çözeltide üreyen bakteri sayısının logaritma cinsinden değeri,

B: Farklı dozlarda biyosit içeren çözeltilerde (deney) üreyen bakterisi sayısının logaritma cinsinden değeri.

3.3.2.2. BS EN 13623:2010 Test Metodu

BS EN 13623:2010 test metodunda biyosit süspansiyonu steril sert su ve steril çeşme suyu olmak üzere iki farklı ortamda seyreltilip, dozlar hazırlanmıştır. Sert su ve çeşme suyu ile hazırlanan biyosit çözeltilerine, son konsantrasyon $1-5 \times 10^7$ kob/ml olacak şekilde bakteri süspansiyonundan eklenmiş ve 37°C 'lik çalkalamalı inkübatörde bekletilmiştir. Deneyin 0, 1, 3 ve 24 saatlik temas süreleri sonunda nötralize ediciye alınan örneklerden seri dilüsyon yapılarak 100 µl BCYE besiyerine ekilip, 37°C 'de 7 gün bekletildikten sonra oluşan koloniler sayılmıştır. Deneyler 3 tekrarlı yapılmıştır (BS EN 13623:2010; Ditommaso ve diğ., 2016).

3.4. SİLQUAT KATKILI CAM ELYAF TAKVİYELİ (CTP) LEVHALARIN ANTİBAKTERİYEL AKTİVİTESİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

1. deney grubunda Fibrosan C.T.P. Sanayi ve Ticaret A.Ş. firması tarafından üretilen antibakteriyel madde uygulanmamış CTP levhalara spreyleme yöntemi ile SilQUAT bileşiği uygulanmıştır. Ön deneme olarak temsilci *S. aureus* ve *E. coli* bakterilerine karşı antibakteriyel aktivitesi Japanese Industrial Standardı (JIS) Z2801:2010'a göre test edilmiştir (JIS Z2801, 2010; Feuillolay ve diğ., 2018).

2. ve 3. deney grubu olarak sırasıyla dolgu materyali reçine ve jel kaplama olan CTP levhaların üretimi esnasında ham madde içerisine SilQUAT bileşiği eklenerek antibakteriyel CTP levhalar üretilmiştir. Bu levhaların *L. pneumophila*, *S. aureus* ve *E. coli* bakterilerine karşı antibakteriyel aktivitesi Japanese Industrial Standardı (JIS) Z2801:2010'a göre test edilmiştir (JIS Z2801, 2010; Feuillolay ve diğ., 2018).

Test bakterileri steril çeşme suyu içerisinde Mc Farland 1 bulanıklığına ayarlanmış, 1/500 Nutrient Broth içerisinde son konsantrasyon $2,5-10 \times 10^5$ kob/ml olacak şekilde seri dilüsyon yapılmıştır. 5x5 cm boyutlarında kesilen örneklerin üzerine 400 µl bakteri süspansiyonu eklenmiş ve tam temas sağlanması için 4x4 cm steril streç ile üzeri kapatılmıştır. 37°C 'de % 5 CO₂'li etüvde 1 ve 24 saat inkübe edilmiş, temas süreleri sonunda örnekler nötralize edici SCDLB Broth içine atılıp antimikrobiyal malzemenin etkinliği durdurulmuştur. Örnekler 1 dakika vortekslendikten sonra seri sulandırma yapılarak *L. pneumophila* bakterisi için BCYE

agara; *S. aureus* ve *E. coli* bakterileri için Plate Count agara (PCA) ekim yapılmıştır. BCYE agar Petri kapları 37 °C’de % 5 CO₂’li etüvde 3-7 gün; PCA Petri kapları 37 °C’de 24 saat inkübe edilmiştir. Süre sonunda oluşan koloniler sayılıp, kontrol grubuna kıyasla ölüm oranı belirlenip, antibakteriyel etkinliği değerlendirilmiştir.

Standarda göre antibakteriyel aktivitenin değerlendirilmesinde aşağıdaki formül kullanılmıştır:

$$R \text{ (Ortalama log Düşüş)} = \log B - \log C$$

B: Belirlenen temas süresi sonunda antibakteriyel bileşik uygulanmamış (kontrol) levhalarından elde edilen kültüre edilebilir canlı hücrelerin sayısı

C: Belirlenen temas süresi sonunda SilQUAT bileşiği ile işlenmiş (deney) levhalarından elde edilen kültüre edilebilir canlı hücrelerin sayısı

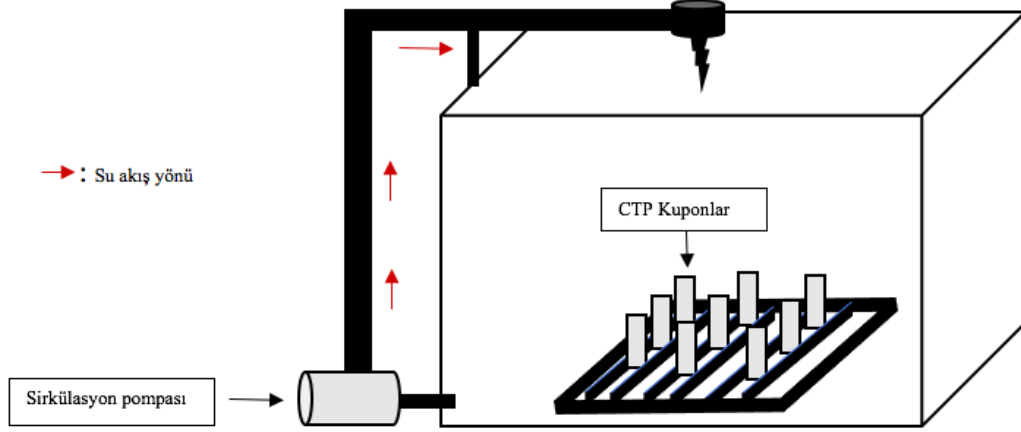
JIS standardına göre $R > 2$ ise denenen ürün “antimikrobiyal” kabul edilir.

3.5. SİLQUAT KATKILI CTP LEVHALARIN MODEL SİSTEM KOŞULLARINDA ANTİBAKTERİYEL AKTİVİTESİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

3.5.1. Soğutma Kulesi Model Sisteminin Tasarımı ve Temizlenmesi

Tez çalışmasında kullanılan model soğutma kulesi sistemi 50x50 cm boyutlarında 100 litre hacimde su alacak şekilde tasarlanmıştır. Hazırlanan çizimler doğrultusunda, Fibrosan C.T.P. Sanayi ve Ticaret A.Ş. firması tarafından model sistemin üretimi sağlanmıştır.

Çalışma öncesi, model soğutma kulesi sistemi mekanik olarak temizlenmiş ardından 100 mg/L’lik sodyum hipoklorit solüsyonu ile 24 saat dezenfekte edilmiştir. Süre sonunda 0,1 N sodyum tiyosülfat (Na₂S₂O₃.5H₂O) çözeltisinin 24 saat sirkülasyonu ile sistem nötralize edilmiş, ardından sistem tamamen boşaltılıp üzeri steril bir kapakla örtülerek kurumaya bırakılmıştır (Smith ve diğ., 2004).



Şekil 3.1: Model sistem soğutma kulesi diyagramı.

3.5.2. CTP Levhaların Hazırlanması ve Antibakteriyel Özellik Kazandırılması

Çalışmada antibakteriyel etkinliği test edilen SilQUAT bileşiği Nanotego firması tarafından sentezlenmiştir. Sentezlenen bileşik Fibrosan C.T.P. Sanayi ve Ticaret A.Ş. firması tarafından CTP plakaların hazırlandığı polyester reçine içerisine ve dış yüzeyine uygulanan jel kaplama malzemesi içerisine SilQUAT bileşiği Sol-jel yöntemi ile uygulanmıştır. Bu yöntemlerin dışında, hazırlanmış CTP levhalarının yüzeylerine spreyleme yöntemi ile SilQUAT bileşiği kaplanmıştır.

2,5x2,5 cm ve 2,5x5 cm boyutlarında olan antibakteriyel özellikteki deney CTP kuponları ve antibakteriyel bileşik içermeyen kontrol CTP kuponları %1' lik deterjan ile yıkanıp distile sudan geçirilmiştir (Miettinen ve Schaule, 2003). Her iki yüzeyi 12 saat ultraviyole ışığın (UV) altında bekletilen kuponlar (Miyanaga ve diğ, 2007) 2 saat UV altında steril edilmiş kupon tutuculara aseptik koşullarda yerleştirilmiştir.

3.5.3. Soğutma Kulesi Model Sistem Deney Düzeneginin Hazırlanması

L. pneumophila bakterisi BCYE agarda üretildikten sonra, steril çeşme suyu içerisinde süspansiyon edilerek, son konsantrasyonu $1,2 \times 10^6$ kob/ml olacak şekilde sisteme aşılanmıştır.

Kuponların bulunduğu kupon tutucular soğutma kulesi model sisteminin içine yerleştirilmiştir. Sistem kuponların üzeri kapanacak şekilde (50 litre) şebeke suyu ile doldurulup sıcaklıktan ve sirkülasyondan kaynaklanan buharlaşmayla suyun azalmasını önlemek için haftalık olarak sisteme su beslemesi yapılmıştır. Sistem suyu tamamlanırken, sudaki madde ve mikroorganizma miktarının kontrol altında tutulması için, toplam çözünmüş madde miktarının şebeke suyunun toplam çözünmüş madde miktarının 2,5 katını geçmemesine dikkat edilmiştir (10 litre/haftada).



Şekil 3.2: Model sistem içerisine yerleştirilmiş deney ve kontrol kuponları.

3.6. MODEL SİSTEMDEKİ BAKTERİLERİN AYLIK OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ

3.6.1. Bakteriyolojik Analiz

Çalıştırılan sistemden aylık olarak *L. pneumophila* ve heterotrofik bakterilerin sayısı kültür yöntemi ile belirlenmiş, örneklerde bulunan toplam ve serbest ATP miktarı ölçülmüştür. Kültüre edilemeyen bakteriler için canlı/ölü floresan boyama yöntemi kullanılmıştır.

Suda bulunan çözünmüş oksijen miktarı, pH değeri, toplam çözünmüş madde miktarı analiz edilmiştir.

3.6.1.1. Sistem Suyunun Bakteriyolojik Analizi

Sistem suyunun bakterinin üremesi için uygun koşullar sağlayıp sağlamadığını ve kuponlarda bulunan antimikrobiyal bileşimin suyla temas ve sıcaklık ile birlikte suya geçip sudaki bakterilere etki edip etmediğini belirlemek için aylık olarak sistemden 100 ml su örneği alınıp selüloz membran filtreden süzölmüştür. Filtreler içerisinde 10 ml steril su bulunan steril poşetlere alınıp stomacher cihazında homojenize edildikten sonra, üç tekrarlı olacak şekilde 100 µl alınarak *L. pneumophila* için BCYE agara ve heterotrofik bakterilerin için R2A agara ekim yapılmıştır. BCYE Petri kapları 37 °C'de % 5 CO₂'li etüvde 3-7 gün; R2A Petri kapları 28-30 °C'deki etüvde 7-10 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonucunda oluşan koloniler koloni sayım cihazında (aCoLyte, Synbiosis) sayılmıştır (Ghanizadeh ve diğ., 2016).

3.6.1.2. SilQUAT Katkılı CTP Kuponlar Üzerindeki Biyofilmin Bakteriyolojik Analizi

Sistemden çıkarılan 2,5x5 cm' lik antibakteriyel CTP ve kontrol kuponları yüzeyinde oluşan biyofilm tabakası steril eküvyon ile kazınıp içerisinde 10 ml steril çeşme suyu olan steril poşetlere alınmıştır. Stomacher cihazında homojenizasyon ile eküvyon üzerinde bulunan biyofilm örneklerinin suya geçmesi sağlanmıştır.

Biyofilm homojenatında bulunan heterotrofik bakterilerin sayımı için R2A agara ekim yapılmıştır (Gagnon ve Slawson, 1999; Walker ve diğ., 1999). Petri kapları 28-30 °C'deki etüvde 7-10 gün inkübe edildikten sonra oluşan koloniler sayılmıştır. Deneyler 3 tekrarlı olarak yapılmıştır.

Biyofilm homojenatında bulunan *L. pneumophila* tespiti için ekim yapılan BCYE agar Petri kapları 37 °C'de % 5 CO₂'li etüvde 3-7 gün inkübe edilip (Gagnon ve Slawson, 1999; Walker ve diğ., 1999), inkübasyon süresi sonunda oluşan koloniler sayılmıştır. Deneyler 3 tekrarlı olarak yapılmıştır.

Aşındırılma yapılmamış biyofilm örneklerindeki bakteri sayılarının düşüşü yüzde olarak da hesaplanmıştır:

$$\text{Yüzde düşüş} = (K-D/K) \times 100$$

K: Antibakteriyel bileşik uygulanmamış (kontrol) levhaları biyofilm homojenatındaki toplam koloni sayısının cm² cinsinden değeri

D: SilQUAT bileşiği ile işlenmiş (deney) levhaları biyofilm homojenatındaki toplam koloni sayısının cm^2 cinsinden değeri

3.6.2. Canlı/Ölü Boyama Yöntemi ile Biyofilm Örneklerindeki Bakteri Sayısının Tespiti

Çalışmada, VBNC fazına geçen bakterileri tespit etmek için, SYTO[®] 9 ve propidium iyodür boyalarını içeren LIVE/DEAD[®] BacLight™ Bacterial Viability Kit L7012 (Molecular Probes) kullanılmıştır. Bu kitte bulunan SYTO 9 boyası tek başına kullanıldığı zaman canlı ve ölü mikroorganizmaların DNA'sına tutunur. Propidium iyodür ise sadece hasarlı mikroorganizmaların DNA'sına tutunur ve SYTO 9 boyasından daha yüksek afiniteye sahiptir. SYTO 9 ve propidium iyodürün birlikte bulunduğu ortamlarda propidium iyodür hasarlı DNA'lara bağlanarak kırmızı rengi yansıtırken, SYTO 9 boyası canlı mikroorganizmalar bağlanarak yeşil rengi yansıtmaktadır (Bhadra ve diğ., 2018).

Deney ve kontrol örneklerinden alınan 1 ml' lik süspansiyona her iki boyadan da 1,5 μl eklenip, 15 dakika karanlıkta oda sıcaklığında bekletilmiştir. Bekleme süresi sonunda boyanmış örnekler filtrasyon yöntemi ile siyah polikarbonat filtreden (Whatman, Cyclopore Track Etched Membrane) süzölmüş, filtreler epifloresan mikroskopta (NIKON, H600L) non-floresan immersiyon yağı damlatılarak görüntölenmiştir. Örneklerin rastgele 10 bölgesinden çekilen fotoğraflardaki ölü ve canlı bakteriler sayılıp, cm^2 deki bakteri sayısı hesaplanmıştır.

3.6.3. ATP Biyoluminesans Yöntemi ile Toplam ve Serbest ATP Miktarlarının Belirlenmesi

Sistem suyundan, antibakteriyel ve kontrol CTP kuponları üzerinden alınan biyofilm homojenatlarından özel eküvyon ile örnek alınıp ATP cihazı ile (Uni-lite[®] NG, Biotrace) toplam ve serbest ATP miktarları ölçölmüştür. Toplam ve serbest ATP farkı alınarak mikrobiyal ATP miktarları değerlendirilmiştir.

3.6.4. Model Sistem Suyunun Toplam Çözönmüş Madde Miktarı, Çözönmüş Oksijen Miktarı ve pH Değeri Belirlenmesi

Sistemden alınan su örneklerinden toplam çözönmüş madde miktarı, çözönmüş oksijen miktarı ve pH değeri HQ 40d multi (HACH) cihazı ile ölçölmüştür. Ölçömler 3 tekrarlı olarak yapılmıştır.

3.7. SİLQUAT BİLEŞİĞİ UYGULANMIŞ CTP LEVHALARININ ANTİBAKTERİYEL AKTİVİTESİNİN KALICILIĞININ TEST EDİLMESİ

3.7.1. Environmental Protection Agency (EPA) #01-1A Protokolüne Göre Aşındırma Testlerinin ve JIS Yönteminin Uygulanması

EPA #01 protokolü antibakteriyel özellik kazandırılmış yüzeylerin mekanik temizlenme ve organik kirlenmenin birbirini takip ettiği ve bu işlem serisinin ardından kalıcı antibakteriyel aktivitenin değerlendirildiği bir test metodudur (EPA #01- 1A; Barkow, 2014).

Çalışmamızda malzemenin kalıcı antibakteriyel etkisi EPA #01-1A metodu ile birlikte JIS Z2801:2010 metotları modifiye edilerek değerlendirilmiştir (EPA #01- 1A; JIS Z2801:2010).

Model sistemden çıkartılan 2,5x2,5 cm' lik antibakteriyel (3 adet) ve antibakteriyel olmayan (3 adet) CTP levhalar 30 °C'lik etüvde steril Petri kaplarının içerisinde kurutulduktan sonra Gardco DV10 aşındırma cihazı ile 4 kuru, 4 nemli (toplam 8 geçiş) aşındırma işlemi uygulanmıştır.



Şekil 3.3: Gardco DV10 aşındırma cihazı.

Aşındırma işlemleri yapıldıktan sonra 200 µl biyofilm homojenatı kuponların üzerine konulup 2x2 cm' lik streç film ile örneklerin üzeri kapatılmış, 37 °C'lik nemli etüvde 24 saat temas ettirilmiştir.

24 saatin sonunda örnekler nötrale edici SCDLP Broth içerisine alınıp, buradan seri sulandırma yapılarak heterotrofik bakteriler için ekim yapılan R2A agar içeren Petri kapları 28-

30 °C'deki etüvde 7-10 gün; biyofilm homojenatındaki *L. pneumophila* bakterilerinin varlığını tespit etmek için ekim yapılan BCYE agar Petri kapları 37 °C'de % 5 CO₂'li etüvde 3-7 gün inkübe edilmiştir. Oluşan koloniler koloni sayım cihazında (aCoLyte, Synbiosis) sayılmıştır. Aşındırılma yapılmış levhalardaki bakteri sayıları, aşındırma yapılmış kontrol grubu ile kıyaslanmıştır. Deneyler 3 tekrarlı olarak yapılmıştır.

JISZ2801 standardına göre antibakteriyel aktivitenin değerlendirilmesinde aşağıdaki formül kullanılmıştır:

$$R \text{ (Ortalama log Düşüş)} = \log B - \log C$$

B: Belirlenen temas süresi sonunda antibakteriyel bileşik uygulanmamış (kontrol) levhalarından elde edilen kültüre edilebilir canlı hücrelerin sayısı

C: Belirlenen temas süresi sonunda SilQUAT bileşiği ile işlenmiş (deney) levhalarından elde edilen kültüre edilebilir canlı hücrelerin sayısı

JIS standardına göre $R > 2$ ise denenen ürün "antimikrobiyal" kabul edilir.

3.7.2. Taramalı Elektron Mikroskobu (TEM) Görüntülemesi için Örneklerin Hazırlanması

CTP levhalar üzerinde oluşan biyofilm tabakasının TEM cihazında görüntülenmesi için sistemden çıkarılan 2,5x2,5 cm boyutundaki aşındırma yapılmış ve yapılmamış kontrol- deney örnekleri, içerisinde % 5 gliserol, fosfat tamponu ve distile su bulunan solüsyonun içerisinde 24 saat 4 °C'de karanlıkta bekletilmiştir. Süre sonunda solüsyondan çıkarılan örnekler bidistile su ile birkaç kez yıkandıktan sonra alkol serilerinde [(% 30, 50, 75, 90, 100 (x2))] 10'ar dakika tutularak fiksasyon işlemi tamamlanmıştır (Nguyen ve Harbison, 2017). SEM görüntülenmesi Sabancı Üniversitesi bünyesinde bulunan GEMINI LEO SUPRA 35 VP mikroskobu ile yapılmıştır.

3.8. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Klasik plak yöntemi, ATP miktar ölçümü ve % canlılık oranının normal dağılım gösterip göstermediği Kolmogorov-Smirnov testi; antibakteriyel ve kontrol CTP kuponları arasında anlamlı fark olup olmadığı *t*- testi; aşındırma yapılmamış ve yapılmış örnekler arasındaki

farklılık t testi kullanılarak belirlenmiştir. Test metodları arasındaki korelasyon ilişkisinin tespit edilmesi için Spearman Rank korelasyon testi kullanılmıştır (Kalan, 2011).

3.9. DENEYLERDE KULLANILAN BESİYERLERİ VE KİMYASALLAR

3.9.1. Deneylerde Kullanılan Besiyerleri

3.9.1.1. Nutrient Agar

Et peptonu 0,50 gram

Et özütü 0,30 gram

Agar 12,0 gram

121 °C’de 15 dakika otoklavda steril edilir.

3.9.1.2. R2A Agar

Maya özütü 0,50 gram

Pepton proteaz 0,50 gram

Kazein hidrolizat 0,50 gram

Glikoz 0,50 gram

Çözünür nişasta 0,50 gram

Sodyum pirüvat 0,30 gram

K₂HPO₄ 0,30 gram

MgSO₄ 0,05 gram

Agar 12,0 gram

Distile su 1000 ml

121 °C’de 15 dakika otoklavda steril edilir.

3.9.1.3. *Buffered Charcoal Yeast Agar (BCYE) Besiyeri*

Maya özütü	10,0 gram
Aktif Kömür	2,0 gram
Agar	12,0 gram
Distile su	900 ml

121 °C'de 15 dakika otoklavda steril edilir, içerisine filtreden geçirilmiş BCYE supplement çözeltisi eklenerek Petri kaplarına dökülür.

3.9.1.4. *BCYE Supplement Çözeltisi*

ACES buffer (N-2-acetamido-2-aminoethanosulfonic acid)	10,0 gram
α -ketoglutarat, monopotasyum tuzu	1,0 gram
Ferrik pirofosfat	0,25 gram
L-sistein hidroklorid monohidrat	0,40 gram
Distile su	100 ml

3.9.1.5. *BYE Broth*

Maya özeti	10,0 gram
α -ketoglutarat	1,0 gram
ACES Buffer	10,0 gram
Ferrik pirofosfat	0,25 gram
L-sistein hidroklorid	0,40 gram
Distile su	1000 ml

pH: 6.9±0.05

10 dakika kaynatmanın ardından 0.22 µm por çaplı enjektör ucu filtreden (Millipore) geçirilerek steril edilir.

3.9.1.6. Nutrient Broth

Et peptonu 5,0 gram

Et özütü 3,0 gram

Distile su 1000 ml

121 °C'de 15 dakika otoklavda steril edilir.

3.9.1.7. Plate Count Agar

Kazein pepton 5,0 gram

Maya özütü 2,50 gram

D (+) Glukoz 1,0 gram

Agar 14,0 gram

Distile su 1000 ml

121 °C'de 15 dakika otoklavda steril edilir.

3.9.2. SCDLP (Soybean Casein Lecithin Polysorbate 80 Medium) Broth

Kazein pepton 17,0 gram

Soybean pepton 3,0 gram

Sodyum Klorid 5,0 gram

Di-potasyum fosfat 2,50 gram

Dextrose 2,50 gram

Lesitin	1 gram
Polysorbate 80 veya Tween 80	7 ml
Distile su	1000 ml

Polysorbate 80 veya Tween 80 distile suyun içerisinde çözüldükten sonra diğer kimyasallar eklenir. Son pH 25 °C'de $7,2 \pm 0,2$ olmalıdır. 121 °C'de 15 dakika otoklavda steril edilir.

3.9.3. Mc Farland Çözeltisi

Mc Farland'in 1 numaralı standart çözeltisini hazırlamak için 9,9 ml % 1'lik H_2SO_4 çözeltisine 0,1 ml % 1.175'lik $BaCl_2 \cdot 2H_2O$ çözeltisi ilave edilmiş ve karıştırılarak bulanıklık elde edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. BİYOSİT ÇÖZELTİSİNİN *L. PNEUMOPHILA* BAKTERİSİNE KARŞI ANTİBAKTERİYEL ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

4.1.1. Antimikrobiyal Bileşiğin Minimum İnhibitör Konsantrasyonunun ve Minimum Bakterisidal Konsantrasyonun Belirlenmesi

SilQUAT bileşiğinin *L. pneumophila* bakterisine karşı MİK dozu 10 mg/L; MBK dozu 60 mg/L olarak belirlenmiştir.

4.1.2. Antimikrobiyal Bileşiğin Farklı Temas Sürelerinde Etkinliğinin Belirlenmesi

MİK-MBK değerleri arasındaki 5 farklı etkin doz (10, 20, 30, 40 ve 50 mg/L) seçilerek, *L. pneumophila* bakterisine karşı farklı temas sürelerindeki aktivitesi ASTM E645-13 ve BS EN 13623:2010 test metotları ile değerlendirilmiştir.

4.1.2.1. ASTM E645- 13 Test Metoduna göre Bakteri Sayısının Belirlenmesi

ASTM E645-13 metoduna göre *L. pneumophila* sayısındaki logaritmik düşüş zamana ve konsantrasyona bağlı olarak değerlendirilmiştir (Tablo 4.1.).

Tablo 4.1: ASTM E645-13 metoduna göre *L. pneumophila* sayısındaki log düşüş.

Temas süresi (Saat)	Konsantrasyon (mg/L)				
	50 mg/L	40 mg/L	30 mg/L	20 mg/L	10 mg/L
0. saat	≥ 5,30	≥ 5,30	4,30	4,30	4,30
1. saat	≥ 5,30	≥ 5,30	≥ 5,30	≥ 5,30	4,30
3. saat	≥ 5,30	≥ 5,30	≥ 5,30	≥ 5,30	≥ 5,30
24. saat	≥ 5,30	≥ 5,30	≥ 5,30	≥ 5,30	≥ 5,30
Kontrol	1,9x 10 ⁵				

ASTM E645-13 test metodu sonuçlarına göre, *L. pneumophila* ATCC 33152 bakterisine karşı SilQUAT biyositinin 50 ve 40 mg/L dozları 0. temas süresinde; 30 ve 20 mg/L dozları 1 saatlik temas süresinde; 10 mg/L dozu 3 saatlik temas süresinde > 5 log (% 99,999) düşüş sağlamıştır (Tablo 4.1.).

4.1.2.2. BS EN 13623:2010 Test Metoduna göre Bakteri Sayısının Belirlenmesi

BS EN 13623:2010 standart metoduna göre sert su ve steril çeşme suyu olmak üzere iki farklı koşulda, *L. pneumophila* sayısındaki logaritmik düşüş, zamana ve konsantrasyona bağlı olarak değerlendirilmiştir (Tablo 4.2. ve Tablo 4.3.).

SilQUAT biyositin sert suda hazırlanmış 10, 20, 30, 40 ve 50 mg/L'lik konsantrasyonları *L. pneumophila* ATCC 33152 bakterisine karşı 1 saatlik temas süresi sonunda > 5 log (% 99,999) düşüş sağlarken; 10 mg/L'lik konsantrasyonu aynı logaritmik düşüşü 3 saatlik temas süresi sonunda sağlamıştır (Tablo 4.2.).

Tablo 4.2: BS EN 12623: 2010 metodunda sert su ile yapılan deneylerde *L. pneumophila* sayısındaki log düşüş.

Temas Süresi(Saat)	Konsantrasyon (mg/L)				
	50 mg/L	40 mg/L	30 mg/L	20 mg/L	10 mg/L
0. saat	3,67	2,33	2,05	0,79	0,73
1. saat	5,50	5,50	5,50	5,50	4,79
3. saat	5,50	5,50	5,50	5,50	5,25
24. saat	5,50	5,50	5,50	5,50	5,50
Kontrol	1,3x 10 ⁵				

Steril çeşme suyu ile yapılan deneylerde biyositin 40 ve 50 mg/L konsantrasyonları 1 saatlik temas sonunda > 5 log (% 99,999) düşüş sağlarken; aynı logaritmik düşüşü 20 ve 30 mg/L dozları 3 saatlik, 10 mg/L dozu 24 saatlik temas süresi sonunda sağlamıştır (Tablo 4.1.3.).

Tablo 4.3: BS EN 13623: 2010 metodunda steril çeşme suyu ile yapılan deneylerde *L. pneumophila* sayısındaki log düşüş.

Temas Süresi(Saat)	Konsantrasyon (mg/L)				
	50 ppm	40 ppm	30 mg/L	20 mg/L	10 mg/L
0. saat	4,28	2,20	2,10	0,87	1,06
1. saat	5,50	5,50	4,64	3,93	2,75
3. saat	5,50	5,50	5,50	5,50	3,78
24. saat	5,50	5,50	5,50	5,50	5,50
Kontrol	1,3 x10 ⁵				

4.2. SİLQUAT KAPLI CTP LEVHALARIN ANTİBAKTERİYEL AKTİVİTESİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

SİLQUAT ile işlenmiş CTP levhaların antibakteriyel aktivitesi, JIS Z 2801:2000 standardına göre değerlendirilmiştir. Bu standarda göre R (ortalama log düşüş) ≥ 2 değeri antibakteriyel aktivite varlığına işaret etmektedir. Spreyleme ile antibakteriyel özellik kazandırılmış CTP levhalarının JIS Z 2801:2000 standardına göre *S. aureus*, *E. coli* ve *L. pneumophila* bakterilerine karşı antibakteriyel aktivitesi sırasıyla Tablo 4.4., Tablo 4.5. ve Tablo 4.6.'da gösterilmiştir.

SİLQUAT bileşiği spreyleme ile uygulanmış levhalar $R \geq 4$ değeri ile standardın temsilcisi Gram negatif (*E. coli*) ve Gram pozitif (*S. aureus*) bakterilerine ve yanı sıra *L. pneumophila* bakterilerine karşı da güçlü antibakteriyel etkiyi göstermiştir (Tablo 4.4., Tablo 4.5. ve Tablo 4.6.).

Tablo 4.4: Spreyleme ile SİLQUAT bileşiği uygulanmış CTP levhaların *S. aureus* ATCC 538 bakterisine karşı antibakteriyel aktivitesi.

Örnek	Mikrobiyal yük *kob/ml		R değeri
	24.saat	% Öldürme Oranı	
Sprey SİLQUAT Uygulanmış Örnek	< 10	99,99	4,14
SİLQUAT Uygulanmamış Örnek (Kontrol)	1,14 x10 ⁵		-
	(0. saat)	(24. saat)	
Bakteri Kontrol	1,36 x10 ⁵		

Kob: koloni oluşturan birim

Tablo 4.5: Spreyleme ile SİLQUAT bileşiği uygulanmış CTP levhaların *E. coli* ATCC 8739 bakterisine karşı antibakteriyel aktivitesi.

Örnek	Mikrobiyal yük *kob/ml		R değeri
	24.saat	% Öldürme Oranı	
Sprey SİLQUAT Uygulanmış Örnek	< 10	99,99	4,91
SİLQUAT Uygulanmamış Örnek (Kontrol)	3,55 x10 ⁵		-
	(0. saat)	(24. saat)	
Bakteri Kontrol	3,33 x10 ⁵		

Kob: koloni oluşturan birim

Tablo 4.6: Spreyleme ile SilQUAT bileşiği uygulanmış CTP levhaların *L. pneumophila* ATCC 33152 bakterisine karşı antibakteriyel aktivitesi

Örnek	Mikrobiyal yük *kob/ml		% Öldürme Oranı	R değeri
	24.saat			
Sprey SilQUAT Uygulanmış Örnek	< 10		99,99	4,88
SilQUAT Uygulanmamış Örnek (Kontrol)	2,55x 10 ⁵			-
	(0. saat)		(24. saat)	
Bakteri Kontrol	2,97x10 ⁵			

Kob: koloni oluşturan birim

Deneylerde kullanılacak CTP malzemesi dolgu maddesinin SilQUAT bileşiğiyle reaksiyona girip, antibakteriyel aktiviteye girişim yapıp yapmadığını anlamak üzere, CTP plakaların hazırlandığı polyester reçine içerisine ve dış yüzeyine uygulanan jel kaplama malzemesi içerisine SilQUAT bileşiği uygulanmıştır. Jel kaplama ve reçine kaplamalı örneklerin *L. pneumophila* bakterisine karşı etkinliği Tablo 4.7. ve Tablo 4.8.'de gösterilmiştir.

Tablo 4.7: SilQUAT bileşiği uygulanmış reçine kaplamalı CTP örneklerinin *L. pneumophila* ATCC 33152 bakterisine karşı etkinliği.

Örnek	Mikrobiyal yük kob/ml			% Öldürme Oranı			R değeri		
	0. sa.	1. sa.	24. sa	0. sa.	1. sa.	24. sa.	0. sa.	1. sa.	24.sa.
SilQUAT uygulanmış örnek	3,57x10 ³	3,07x10 ³	< 10	99,23	99,35	99,999	2,11	2,19	5,29
SilQUAT uygulanmamış örnek (kontrol)	4,67x10 ⁵	4,79x10 ⁵	1,96x10 ⁶						—
	(0. saat)	(1. saat)	(24. saat)						
Bakteri kontrol				3,12x10 ⁶					

Kob: koloni oluşturan birim

Tablo 4.8: SilQUAT bileşiği uygulanmış jel kaplamalı CTP örneklerinin *L. pneumophila* ATCC 33152 bakterisine karşı etkinliği.

	Mikrobiyal yük kob/ml				% Öldürme Oranı			R değeri	
	0. sa.	1. sa.	24. sa.	0. sa.	1. sa.	24. sa.	0. sa.	1. sa.	24.sa.
Örnek									
SilQUAT uygulanmış örnek	3,08x10 ³	1,83x10 ³	1,01x10 ³	99,24	99,65	99,95	2,11	2,46	3,31
SilQUAT uygulanmamış örnek (kontrol)	4,06x10 ⁵	5,33x10 ⁵	2,07x10 ⁶						
	(0. saat)	(1. saat)	(24. saat)						
Bakteri kontrol				3,12x10 ⁶					

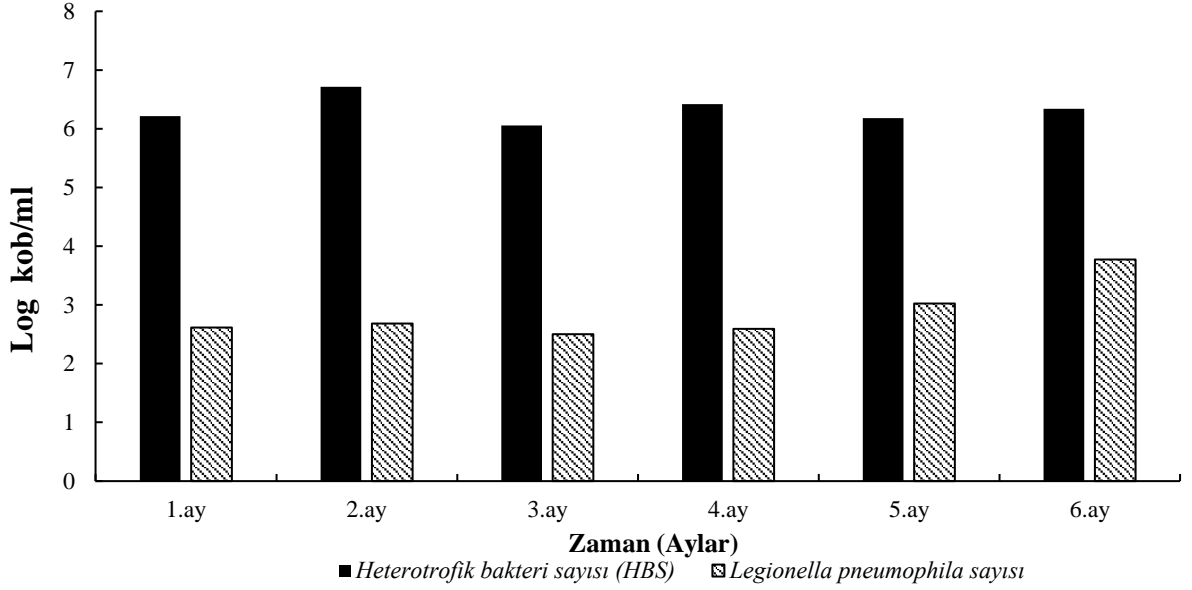
Kob: koloni oluşturan birim

R değeri hem jel kaplama hem de reçine dolgululu malzemede > 2 çıkmakla beraber, reçineli örneklerde 24 saat sonunda R değeri 5 log'un üzerinde (% 99,999) bulunduğu için sonraki aşama olan model sistem deneylerinde reçineli örnekler kullanılmıştır.

4.3. MODEL SİSTEMDE BULUNAN HETEROTROFİK BAKTERİLERİN VE *L. PNEUMOPHILA*'NİN AYLIK OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ

4.3.1. Model Sistem Suyunun Bakteriyolojik Analizi

Model sistem suyundan yapılan aylık örneklemeler sonucunda, 6 aylık heterotrofik bakteri sayısı (HBS) ve *L. pneumophila* sayısındaki değişimler log cinsinden Şekil 4.1.'de verilmiştir.

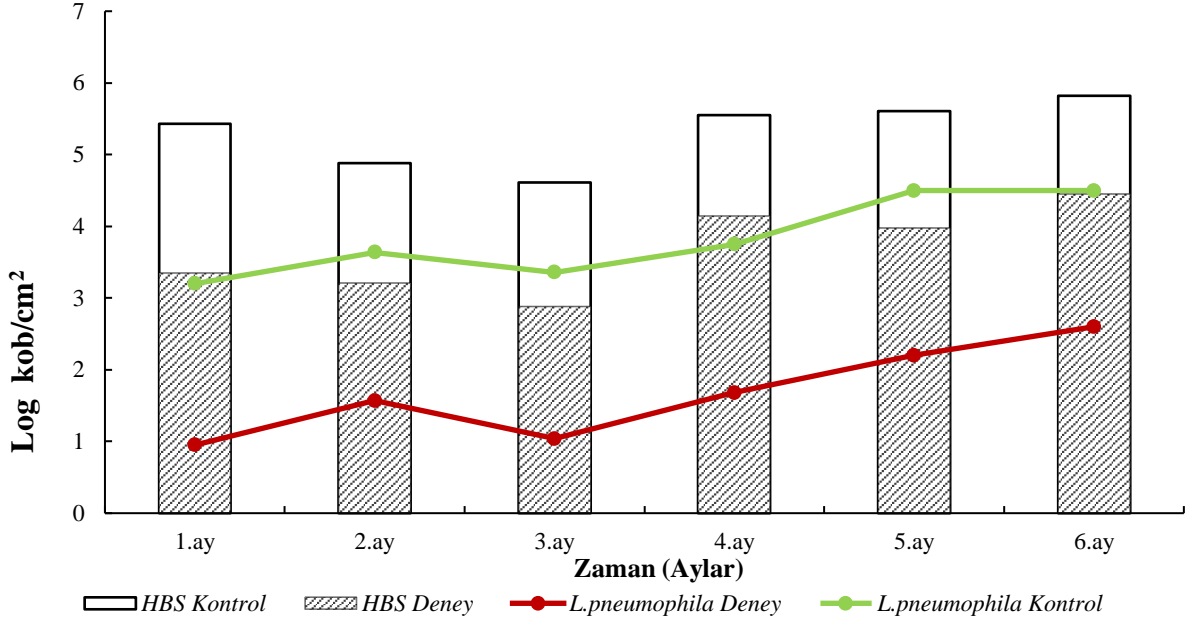


Şekil 4.1: Model sistem suyunda bulunan heterotrofik bakteri ve *L. pneumophila* sayısının logaritmik değerleri

Şekil 4.1.' de görüldüğü gibi heterotrofik bakteriler açısından yoğun başlayan deneyin diğer aylarında çok ciddi artış gözlenmemiştir. 2., 4. ve 6. aylarda kuponlar üzerinde oluşan biyofilmden kopmalar meydana gelip suya karışmış bu aylarda suyun mikrobiyal yükünde artış gözlenmiştir. Ayrıca, sudan yapılan kuarternar amonyum bileşiği ölçümü HYDRION® QT-10 indikatörü ile yapılmış ve sonucun 0 (Sıfır) olduğu, SilQUAT bileşiğinin uygulandığı CTP levhalardan suya geçmediği, yüzeyde kalıcı kaplama sağladığı belirlenmiştir.

4.3.2. Model Sistem Biyofilm Örneklerinde Bulunan Heterotrofik Bakteri ve *L. pneumophila* Sayısının Aylık Olarak Değerlendirilmesi

Model sistemde 6 ay boyunca test edilen kuponların yüzeyinden kazınan biyofilm homojenatlarında var olan mikroorganizma sayılarının log cinsinden değeri Şekil 4.2'de verilmiştir.

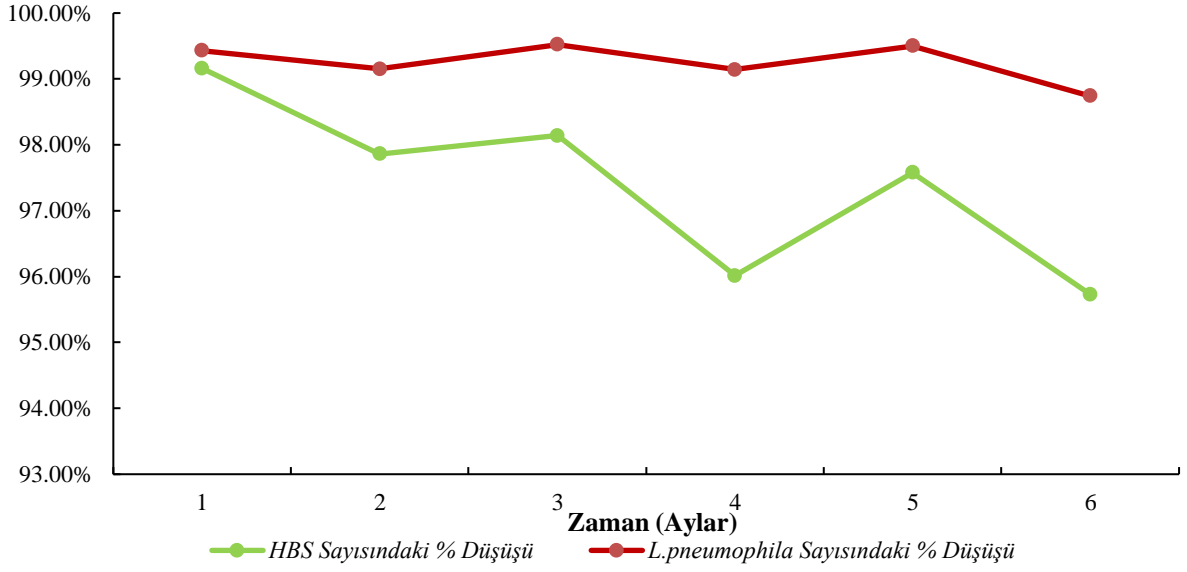


Şekil 4.2: Aşındırma yapılmamış örneklerde bulunan heterotrofik bakterilerin ve *L. pneumophila* sayısının log cinsinden düşüş değerleri.

Şekil 4.2’ de görüldüğü gibi 1. ve 2. aylarda deney örneklerindeki heterotrofik bakterilerin sayısında belirgin bir artış olmamışken 3. aydaki düşüşten sonra 4., 5. ve 6. aylarda bakteri sayısında artış gözlenmiştir. İlk aylarda yerleşik olmayan biyofilm tabakası son 3 ayda bir dengeye ulaşmıştır.

L. pneumophila deney ve kontrol örneklerinde ise 2. aydan sonra gerçekleşen düşüşün ardından 3. aydan 6. aya kadar yaklaşık 1 log’luk bir artış gözlenmiştir. Ancak deney ve kontrol örnekleri arasında var olan yaklaşık 2 log’luk fark 6 ay boyunca korunmuştur.

Aşındırılma yapılmamış biyofilm örneklerindeki bakteri sayılarının düşüşü yüzdelik cinsinden de hesaplanmıştır.



Şekil 4.3: Aşındırma yapılmamış örneklerde HBS ve *L. pneumophila* sayısının % cinsinden düşüşü.

Aşındırılma yapılmamış antibakteriyel CTP kuponlarındaki heterotrofik bakteri sayısı kontrole göre, ilk ayda % 99, 6. ayda % 95 azalma göstermiştir (Şekil 4.3.).

SilQUAT bileşiği uygulanmış CTP levhalarda kontrole kıyasla *L. pneumophila* sayısında 6 ay süresince % 99'luk bir düşüş belirlenmiştir (Şekil 4.3.).

4.4. CANLI/ÖLÜ BOYAMA YÖNTEMİ İLE BAKTERİ SAYILARININ BELİRLENMESİ

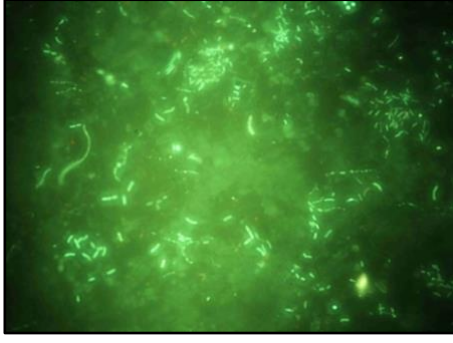
Yaşayan fakat kültüre edilemeyen bakterilerin belirlenmesinde kullanılan canlı/ölü boyama yöntemi sonuçlarına göre, deney örneklerinde canlı organizma sinyal sayısı toplam sinyal sayısının yaklaşık % 37-55 iken, kontrol örneklerinde bu oran % 89-95 arasındadır (Tablo 4.9.).

Tablo 4.9: Sistemde bulunan örneklerdeki toplam ve canlı mikroorganizma sayısı.

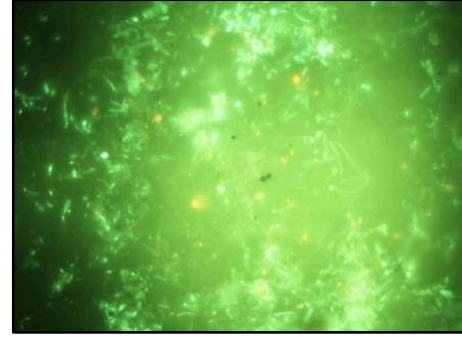
	<u>Biyofilm Deney</u>			<u>Biyofilm Kontrol</u>		
	<u>Toplam Sinyal Sayısı (ml)</u>	<u>Canlı organizma Sinyal Sayısı (ml)</u>	<u>Canlı organizma yüzdesi (%)</u>	<u>Toplam Sinyal Sayısı (cm²)</u>	<u>Canlı organizma Sinyal Sayısı (cm²)</u>	<u>Canlı organizma yüzdesi (%)</u>
1.ay	33,35	15,25	45,72	44,62	40,10	89,87
2.ay	35,9	16,50	45,96	20,42	18,40	90,10
3.ay	17,10	7,50	43,85	22,05	20,20	91,60
4.ay	21,70	10,40	47,92	24,42	22,80	93,36
5.ay	30,80	11,40	37,01	20,37	20,37	95,00
6.ay	62,40	34,30	54,96	95,83	86,33	90,00

Deney ve kontrol örnekleri arasında yapılan istatistiksel t- testi sonucunda p değeri < 0,05 olarak hesaplanmıştır.

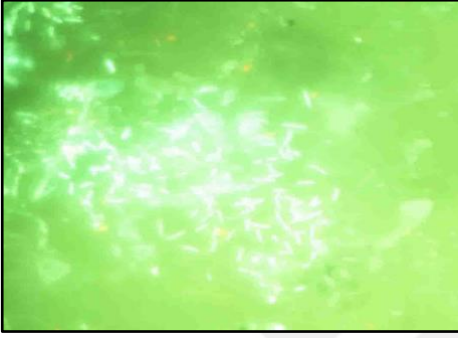
Canlı/ölü boyama yöntemiyle görüntülenen biyofilm homojenatlarından fotoğraflar Şekil 4.4.' de görülmektedir.



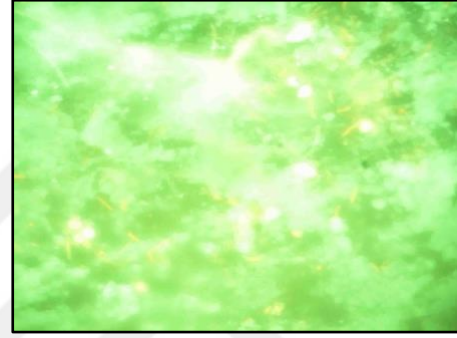
A.



B.



C.



D.

Şekil 4.4: Aşındırma yapılmamış örneklerden yapılan canlı/ölü floresan boyama

(Kırmızı renki bakteriler ölü; yeşil renkli bakteriler canlı).

A. Kontrol biyofilm örneğinde canlı/ölü bakteriler (1. ay)

B. Deneysel biyofilm örneğinde canlı/ölü bakteriler (1. ay)

C. Kontrol biyofilm örneğinde canlı/ölü bakteriler (6. ay)

D. Deneysel biyofilm örneğinde canlı/ölü bakteriler (6. ay)

4.5. BİYOFİLM VE PLANKTONİK ÖRNEKLERİNDE BULUNAN TOPLAM VE SERBEST ATP MİKTARININ AYLIK DEĞERLENDİRİLMESİ

Model sistem suyunda ve biyofilm örneklerinde bulunan toplam ve serbest ATP miktarı ölçüm sonuçlarına göre, planktonik örneklerde toplam ve serbest ATP miktarları arasındaki farkın, dolayısıyla mikrobiyal ATP'nin arttığı belirlenmiştir (Tablo 4.10.). Bu sonuçlar da SilQUAT bileşiğinin suya geçmediğini göstermiştir.

Hem deney hem de kontrol biyofilm örneklerinde, cm^2 'deki mikrobiyal ATP değerinde kontrol kuponlarına kıyasla düşüş gözlenmiştir ($p < 0,05$), (Tablo 4.10.).

Tablo 4.10: Biyofilm ve planktonik örneklerdeki toplam ve serbest ATP değerleri.

Zaman	Planktonik		Biyofilm			
	Toplam ATP	Serbest ATP	Toplam ATP		Serbest ATP	
	(*RLU/ml)	RLU/ml)	(RLU/cm²)		RLU/cm²)	
0.saat	756	438	-		-	
			<u>DENEY</u>	<u>KONTROL</u>	<u>DENEY</u>	<u>KONTROL</u>
1.ay	800	510	113	216	44,2	37
2.ay	890	480	52,8	195	62,2	31,6
3.ay	865	450	72	204	57,6	35
4.ay	900	440	170,6	210,5	64,5	40
5.ay	1050	510	117,2	203	72,5	32,4
6.ay	1230	580	187,2	271,2	70,4	30,5

*RLU:Relativite Light Unite

4.6. MODEL SİSTEM SUYUNDAKİ TOPLAM ÇÖZÜNMÜŞ MADDE MİKTARININ, ÇÖZÜNMÜŞ OKSİJEN MİKTARININ VE PH DEĞERLERİNİN ÖLÇÜLMESİ

Saha çalışması öncesi model soğutma kulesi sisteminin gerçek kule koşullarına benzerliğini belirlemek üzere, sistem suyunun toplam çözünmüş madde miktarı, çözünmüş oksijen miktarı ve pH seviyesi gibi fiziksel ve kimyasal özellikleri 6 ay boyunca ölçülmüştür (Tablo 4.11.).

Tablo 4.11: Model sistem suyundaki toplam çözünmüş madde miktarı, çözünmüş oksijen miktarı ve pH değerinin aylık ölçümü.

	0.saat	1.ay	2.ay	3.ay	4.ay	5.ay	6.ay
Oksijen miktarı (mg/L)	9,96	8,20	7,53	9,49	8,68	8,84	8,76
TÇM miktarı (mg/L)	200	347	376	452	500	555	602
pH	8,16	8,05	7,87	7,57	7,98	7,94	7,93

Model sistem suyunun çözünmüş oksijen miktarı en yüksek 9,96 mg/L en düşük 7,53 mg/L olarak belirlenmiştir.

Sistemde bulunan toplam çözünmüş madde miktarı 1. aydan itibaren artış göstermiş, en yüksek 602 mg/L en düşük 200 mg/L ölçülmüştür. Sistemden aylık olarak yapılan deşarj ve beslemeyle bu oran en aza indirgense de, toplam çözünmüş madde miktarının şebeke suyuna kıyasla model sistemde yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Model sistemin pH seviyesi 6 ay boyunca bazik özellik göstermiş ve en yüksek 8,16 en düşük 7,97 olarak ölçülmüştür. Ölçülen pH seviyesinin de şebeke suyundan yüksek olduğu belirlenmiştir (Tablo 4.11.).

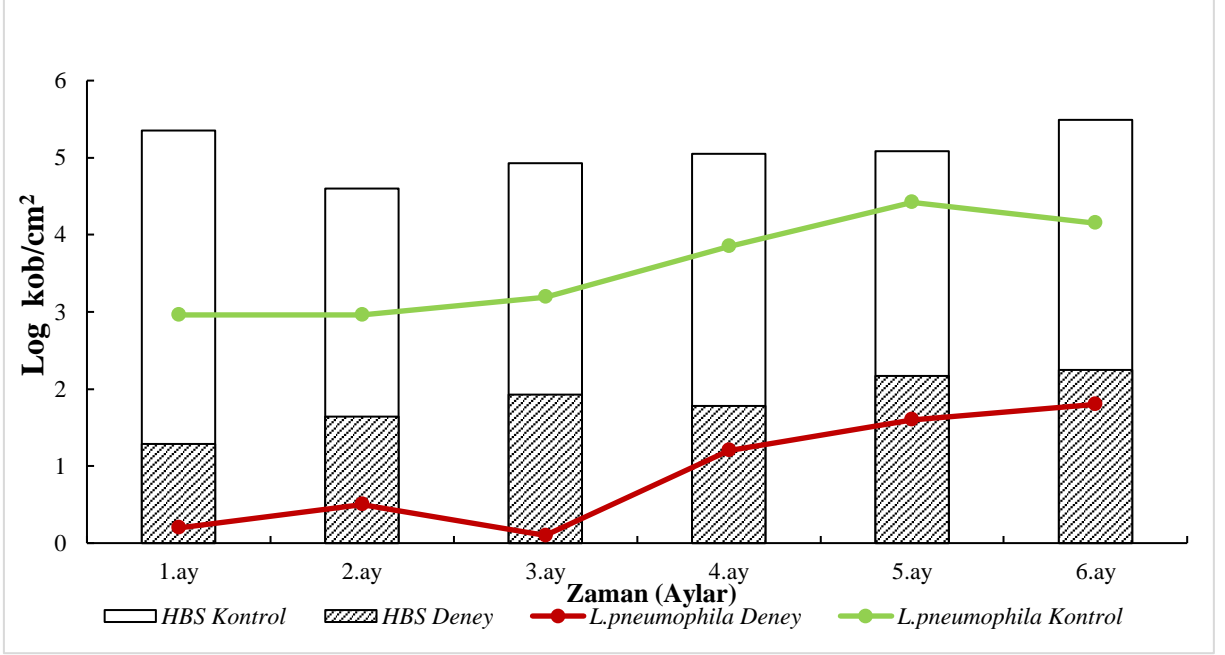
Model sistem suyundan 6 ay boyunca ölçülen çözünmüş oksijen seviyesi, toplam çözünmüş madde miktarı ve pH değeri gerçek kule suyunun değerlerine benzerlik göstermiştir.

4.7. AŞINDIRMA YAPILMIŞ ÖRNEKLERDE KALICI ANTİBAKTERİYEL ETKİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Gerçek kule kullanım koşullarında CTP levhaların mekanik temizlik simülasyonu için, nemli/kuru aşındırma işlemi uygulanmıştır. Aşındırma işlemi uygulanmış antibakteriyel ve kontrol levhalarının tekrar biyofilm homojenatı ile teması sağlandıktan sonra antibakteriyel aktivitesi değerlendirilmiştir.

4.7.1. Aşındırma Yapılmış Örneklerde Heterotrofik Bakteri ve *L. pneumophila*'nın Aylık Olarak Değerlendirilmesi

Aşındırma yapılmış antibakteriyel örneklerde heterotrofik bakteri ve *L. pneumophila* sayısında kontrole kıyasla ≥ 3 log'luk bir düşüş gözlenmiştir (Şekil 4.5.).



Şekil 4.5: Aşındırma yapılmış örneklerde bulunan heterotrofik bakterilerin ve *L. pneumophila* sayısının log cinsinden değerleri.

Aşındırma yapılan örneklerde R değeri heterotrofik bakteriler için en yüksek 1. ayda 4,05; en düşük 5. ayda 2,91 olarak belirlenmiştir. Aşındırma yapılmış antibakteriyel levhalarda kültüre edilebilir heterotrofik bakteri sayısında kontrole göre % 99,90-99,99 oranında düşüş gerçekleşmiştir (Tablo 4.12.).

İstatiksel analiz sonucunda kontrol ve deneş örnekleri arasında uygulanan t- testinde $p < 0,05$ olarak hesaplanmıştır.

L. pneumophila bakterileri için R değeri en yüksek 3. ayda 3,00; en düşük 6. ayda 2,35 olarak hesaplanmıştır. *L. pneumophila* bakteri sayısında kontrole göre % 99,55-99,91 oranında düşüş gerçekleşmiştir (Tablo 4.12.).

Tablo 4.12: Aşındırma yapılmış örneklerde HBS ve *L. pneumophila* sayısının R değeri ve % cinsinden düşüşü.

	<u>HBS sayısındaki</u> <u>% düşüş</u>	<u>R değeri</u>	<u><i>L. pneumophila</i></u> <u>sayısındaki %düşüş</u>	<u>R değeri</u>
1.ay	% 99,99	4,05	% 99,82	2,76
2.ay	% 99,89	2,96	% 99,65	2,46
3.ay	% 99,90	3,0	% 99,91	3,0
4.ay	% 99,94	3,2	% 99,77	2,6
5.ay	% 99,87	2,91	% 99,85	2,8
6.ay	% 99,94	3,2	% 99,55	2,35

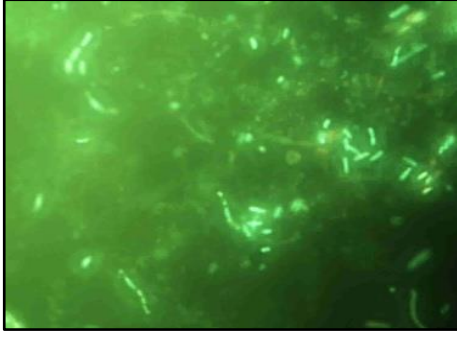
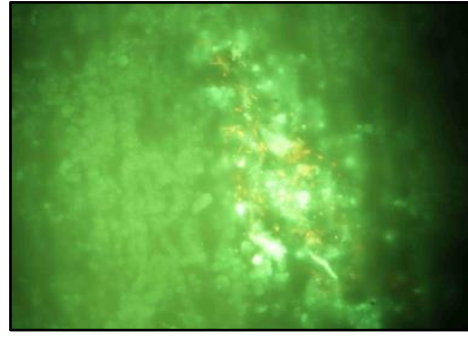
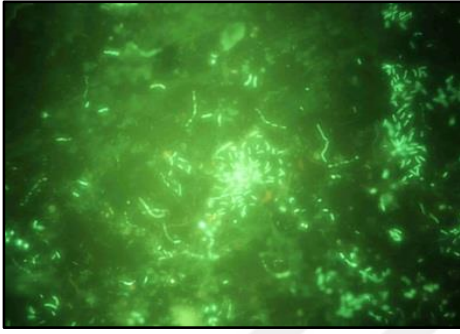
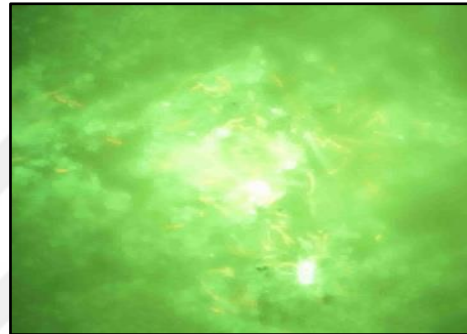
4.7.2. Aşındırma Yapılmış Örneklerdeki Canlı/Ölü Bakteri Sayısının Değerlendirilmesi

Deney örneklerinde % canlılık oranı yaklaşık % 20-35 iken, kontrol örneklerinde bu oran % 87-97 arasındadır (Tablo 4.13.).

Tablo 4.13: Aşındırma yapılmış örneklerdeki toplam ve canlı bakteri sinyal sayısı.

	<u>Biyofilm Denev</u>			<u>Biyofilm Kontrol</u>		
	<u>Toplam</u> <u>Sinyal Sayısı</u> <u>(cm²)</u>	<u>Canlı organizma</u> <u>Sinyal Sayısı (cm²)</u>	<u>Canlı</u> <u>organizma</u> <u>yüzdesi</u> <u>(%)</u>	<u>Toplam</u> <u>Sinyal Sayısı</u> <u>(cm²)</u>	<u>Canlı organizma</u> <u>Sinyal Sayısı (cm²)</u>	<u>Canlı</u> <u>organizma</u> <u>yüzdesi</u> <u>(%)</u>
1.ay	28,00	6,44	23	36,50	32,37	86,68
2.ay	32	7,68	24	37,18	34,42	92,57
3.ay	19,27	4,13	21,46	18,17	16,20	89,15
4.ay	23,8	6,66	27,98	21,78	20,07	92,14
5.ay	19,87	3,97	19,97	26,33	25,46	96,69
6.ay	54,68	19,18	35,07	19,36	18,03	93,13

Şekil 4.6.'da aşındırma yapılmış örneklerdeki canlı/ölü boyama sonuçlarına ait fotoğraflar gösterilmiştir.

**A.****B.****C.****D.**

Şekil 4.6: Aşındırma yapılmış örneklerden yapılan canlı/ölü floresan boyama.

(Kırmızı renki bakteriler ölü; yeşil renkli bakteriler canlı).

A. Aşındırma yapılmış kontrol örneğinde canlı/ölü bakteriler (1. ay)

B. Aşındırma yapılmış deney örneğinde canlı/ölü bakteriler (1. ay)

C. Aşındırma yapılmış kontrol örneğinde canlı/ölü bakteriler (6. ay).

D. Aşındırma yapılmış deney örneğinde canlı/ölü bakteriler (6. ay)

4.7.3. Aşındırma Yapılmış Örneklerdeki Toplam ve Serbest ATP Miktarının Tayini

Tablo 4.14: Aşındırma yapılmış örneklerdeki toplam ve serbest ATP miktarı.

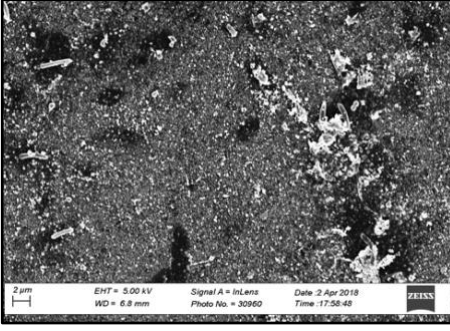
	Deney Biyofilm		Kontrol Biyofilm	
	<u>Toplam ATP</u>	<u>Serbest ATP</u>	<u>Toplam ATP</u>	<u>Serbest ATP</u>
1.ay	98	26	187	29
2.ay	48	55	198	33
3.ay	65	55	213	28
4.ay	136	46	246	36
5.ay	96	71	205	23
6.ay	113	27	283	27

Aşındırma yapılmış deney kuponlarındaki mikrobiyal ATP/cm² değerinde, kontrol grubu mikrobiyal ATP değerine kıyasla düşüş olduğu belirlenmiştir ($p < 0,05$).

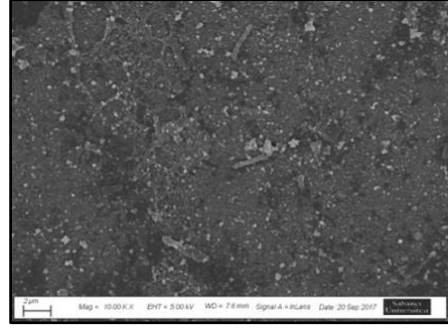
4.8. TARAMALI ELEKTRON MİKROSKOBU İLE BİYOFİLM ANALİZİ

TEM ile yapılan görüntülemelerde aşındırma yapılmış ve yapılmamış deney ve kontrol grubu levhaları üzerindeki biyofilm tabakası birikimi bakımından incelenmiştir (Şekil 4.7. ve Şekil 4.8.).

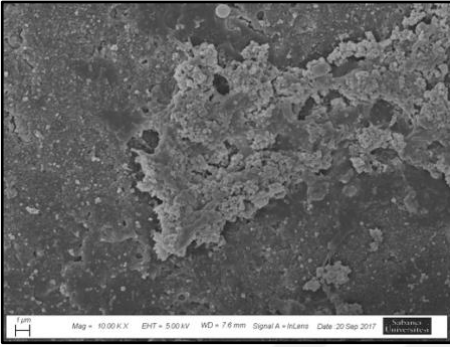
Aşındırma yapılmamış deney örneklerinde kontrole kıyasla biyofilm birikiminin daha az olduğu 6 boyunca ise biyofilm tabakasının belirgin biçimde arttığı gözlenmiştir (Şekil 4.7. A-D).



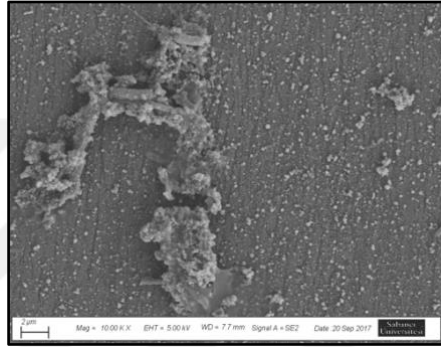
A.



B.



C.

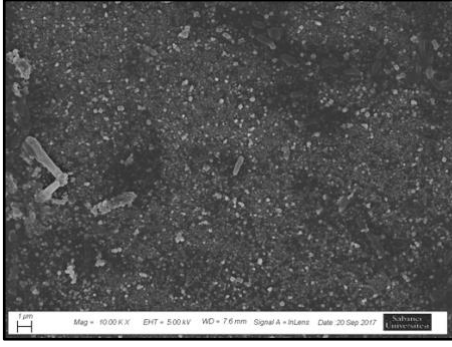


D.

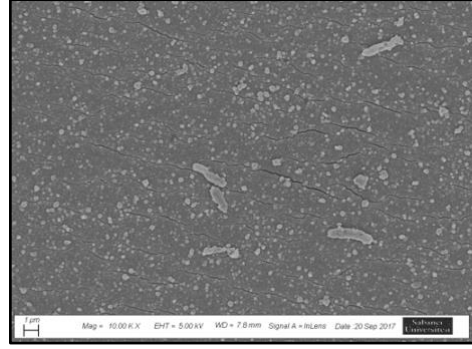
Şekil 4.7: Aşındırma yapılmamış örnekler TEM görüntüleri.

- A. Aşındırma yapılmamış kontrol örneği- 1. ay
- B. Aşındırma yapılmamış deney örneği- 1. ay
- C. Aşındırma yapılmamış kontrol örneği – 6. ay
- D. Aşındırma yapılmamış deney örneği- 6. ay

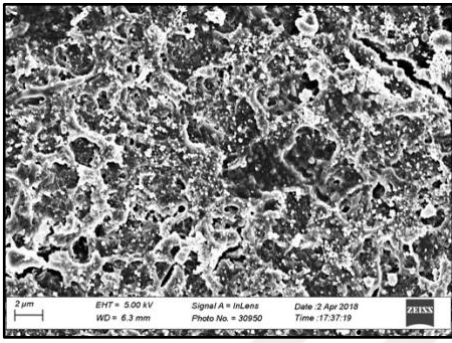
Aşındırma yapılmış kontrol örneklerinde biyofilm tabakası zamanla kalınlaştığı için aşındırma işleminin etkisi azalmış ve biyofilm tabaka olarak kaldığı belirlenmiştir (Şekil 4.8. A, C). Aşındırma yapılmış deney örneklerinde kontrole ve aşındırma yapılmamış örneklere kıyasla daha az biyofilm birikimi gözlenmiştir (Şekil 4.8. B, D).



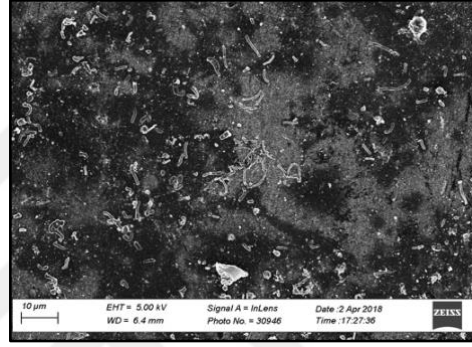
A.



B.



C.



D.

Şekil 4.8: Aşındırma yapılmış örnekler TEM görüntüleri.

- A. Aşındırma yapılmış kontrol örneği- 1. ay
- B. Aşındırma yapılmış deney örneği- 1. ay
- C. Aşındırma yapılmış kontrol örneği- 6. ay
- D. Aşındırma yapılmış deney örneği- 6. ay

4.9. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Kolmogorov- Smirnov testine göre test sonuçlarının normal dağılım gösterdiği belirlenmiştir ($p > 0,05$).

Antibakteriyel ve kontrol CTP kuponları arasındaki farklılığın tayin edilmesi için kullanılan t testi'nde p değeri $< 0,05$ olarak bulunmuş ve aralarında anlamlı fark olduğu tespit edilmiştir.

Aşındırma yapılmamış ve yapılmış örnekler arasında *t* testi istatistiksel analiz sonuçlarına göre, heterotofik bakteriler ve % canlı sayısı arasında *p* değeri $< 0,05$ olarak bulunurken, ATP ve *Legionella* için yapılan analizde *p* değeri $> 0,05$ olarak hesaplanmıştır.

Spearman Rank Korelasyon analizine göre, test metodları arasındaki korelasyon ilişkisinde *r* değeri en düşük aşındırma yapılmamış antibakteriyel CTP örneklerindeki heterotrofik bakteri sayısı ile ATP miktarı ve % canlılık oranı karşılaştırmasında 0,1797; en yüksek aşındırma yapılmamış antibakteriyel CTP örneklerindeki *L. pneumophila* sayısı ve ATP miktarı arasında 0,9491 olarak hesaplanmıştır. Korelasyon testinde *r* değerinin > 0 olması metodlar arasında pozitif korelasyon olduğunu yani paralel yürütülen deneylerin benzer sonuçlar verdiğini göstermiştir.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Biyofilm oluşumu, mikroorganizmaların en etkili hayatta kalma stratejisidir. Zorlu ortam koşullarına hızla adapte olabilen biyofilmle ilişkili mikroorganizmalar, endüstrinin çoğu alanında ciddi ekonomik kayıplara yol açmaktadır. Birçok endüstriyel prosesin parçası olan soğutma kuleleri de biyofilm tabakasının en çok görüldüğü yerlerden biridir. Biyofilm, soğutma kulesinde metalik korozyonun hızlanması; ısı enerji transferinde azalma gibi nedenlerle sistemin çalışmasında aksaklıklara sebep olmaktadır. Ekipmanda oluşan biyofauling temizlemek ve ekipmanın kapasitesini arttırmak, korozyona uğramış ekipmanı planlanandan çok önce yenisi ile değiştirmek için ciddi harcamalar gerekmektedir. Nitekim, mikrobiyolojik/kimyasal korozyonun soğutma kuleleri ve kulelerin ısı değiştiricilerinde çok büyük ekonomik kayıplara yol açtığı bilinmektedir. Ülkelerin Gayri Safi Milli Gelir'inin yaklaşık % 3,5-5'i korozyon kaynaklı; % 3,1'i biyofauling kaynaklı ekonomik kayıplara denk gelmektedir. Türkiye'de bu değer % 4,5 dolayında olduğu tahmin edilmektedir (Doğruöz-Güngör, 2014).

Biyofilm, verdiği endüstriyel zararın yanısıra, *Legionella* gibi patojenler de dahil olmak üzere birçok bakteriye niş sağlama potansiyeli ile önemli kamu sağlığı problemlerinin ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Biyofilm tabakası oluşumunu önlemek mümkün olmadığından, biyofilm ile mücadelede resmin bütününe görerek, aşamalı yaklaşımla sorunun çözülmesini hedeflemek gerekmektedir (Türetgen ve diğ., 2012; Di Pippo ve diğ., 2018).

Biyofilm ile mücadelede, fırçalama, yüksek sıcaklık gibi fiziksel yöntemler ile biyosit kullanımını içeren kimyasal yöntemler uygulanmaktadır (Sedzro ve diğ., 2017). Ancak fiziksel yöntemlerin, uygulama zorluğu, uygulama sırasında patojen bulaşma riski taşıması ve sistemin kapatılmasını gerektirmesi, buna bağlı olarak maddi kayıplara yol açması nedeniyle etkin dezenfeksiyon programlarında öncelikli olarak kimyasal yöntemler tercih edilmektedir. (Cloete, 2003; Quigley, 1996).

Sistemik biyosit uygulamalarının dahi, biyofilm giderilmesinde kesin çözüm sağlayamadığı bilinmektedir. Yanlış-yetersiz veya tam aksine gereğinden fazla biyosit kullanımının neden olduğu mikrobiyal direnç, korozyon gibi problemleri ortadan kaldırmak için alternatif yöntemler aranmaktadır. Bu yöntemlerden biri de, ilk andan itibaren biyofauling oluşumu ve biyofilm tutunmasını önlemek üzere yüzeylerin modifiye edilmesidir. Bu sayede, riski

kaynağında yok etmek mümkün olmaktadır. Önerilen tez çalışması ile soğutma kulesi yapı malzemesinde kullanılacak CTP levhalara antibakteriyel özellik kazandırılarak, sistemin ilk kurulum aşamasından itibaren mikroorganizmaların tutunması ve biyofilm oluşumunun başlangıçta önlenmesi hedeflenmiştir.

Bir veya daha fazla biyosidal ürünle işlenerek, yüzeylere antimikrobiyal özellik kazandırılması son yıllarda endüstride yoğun ilgi görmektedir. Antimikrobiyal yüzeylerin eldesinde yüzeye tutuklama, nanoişlemler, spreyleme, sol-jel tekniği gibi metotlar uygulanmaktadır (Murata ve diğ., 2007; De Kwaadsteniet ve diğ., 2011).

CTP, korozyona ve kimyasallara dayanıklılığı ve düşük maliyetli oluşu nedeniyle alternatiflerine oranla en çok tercih edilen soğutma kulesi malzemesidir. CTP levhalara antibakteriyel özellik kazandırılması pratikte uygulanmasına rağmen (Cliff ve diğ., 2014; Çınar- Çınar, 2016), soğutma kulesi yapı materyali olarak antibakteriyel CTP levhalarının kullanımına rastlanmamıştır. Antibakteriyel CTP levhaların kullanımı esnasında biyofilmin durumu ve uygulanan antibakteriyelin kalıcı aktivitesine ilişkin yayınlanmış veriye de rastlanmamıştır.

Çalışmamızda CTP levhalara bir kuaternar amonyum bileşiği olan SilQUAT bileşiği uygulanarak antibakteriyel özellik kazandırılmıştır. Kuaternar amonyum bileşikleri düşük toksisite, hedef organizmalar için formüle edilebilme, antikorozyon etki gibi özellikleri ile endüstriyel alanda kullanılan biyositlerdir (Gerba, 2015). Farklı alanlarda yapılan çalışmalar, kuaternar amonyum bileşiklerine fonksiyonel gruplar eklenmesinin, bileşiğin antimikrobiyal etkisini ve uygulandığı yüzeylerdeki kalıcılığını arttırdığını göstermiştir (Xue ve diğ., 2015; Daood ve diğ., 2017; Ohashi ve diğ., 2017). Stefano Zanini ve arkadaşları (2015) ile Gottenbos ve arkadaşları (2002), yaptıkları çalışmalarda silan grup eklenmiş kuaternar amonyum bileşiklerinin güçlü antibakteriyel aktivite gösterdiğini belirtmişlerdir. SilQUAT bileşiğinin yapısında bulunan silan grupları kovalent bağlar ile uygulandığı yüzeye kalıcı olarak tutunmasını, uzun hidrofobik ucu ve pozitif yüklü kuaternar bölgesi antibakteriyel etkiyi sağlamaktadır (Menceloğlu ve diğ., 2011). Şanlı ve arkadaşları (2016) SilQUAT bileşiğinin kalıcılık aktivitesini seramik yüzeyler üzerinde test etmiş ve sonucun etkili olduğunu raporlamışlardır.

Biyosidal ürünler ve işlenmiş eşyaların etkinliği test edilirken aşamalı ve bütünlüklü bir yaklaşım gereklidir (Flemming, 2002; Tanji ve diğ., 2007). Endüstriyel sistemlerde kullanım öncesi laboratuvar koşullarında etkinliği belirlenen antibakteriyel ajanın modelleme çalışmaları ile aktivitesi/kalıcılığı izlenmeli ve ardından saha uygulamalarına geçilmelidir (Yamamoto ve diğ., 1991; Elsmore, 1993; Abedon, 2011). Bu amaçla tez çalışmasında:

- i) SilQUAT bileşiğinin *Legionella* bakterilerine karşı MİK-MBK dozları tespit edilmiş,
- ii) Bileşiğin MİK-MBK değerleri arasındaki 5 aktif dozunun, ASTM E645-13 ve BS EN 13623:2010 test metotları ile farklı temas sürelerindeki etkinliği belirlenmiş,
- iii) JIS Z2801:2010 testi ile in vitro koşullarda malzemeye uygulanmış SilQUAT bileşiğinin antibakteriyel aktivitesi test edilmiş,
- iv) Antibakteriyel CTP levhalar model sisteme yerleştirilerek 6 ay süresince farklı mikrobiyolojik testlerle biyofilm takibi yapılmış,
- v) Kalıcı antibakteriyel aktivite EPA #01- 1A protokolü ile değerlendirilmiştir.

SilQUAT bileşiğinin MİK (10 mg/L) ve MBK (60 mg/L) dozları arasındaki 5 farklı dozunun ASTM E645-13 ve BS EN 13623:2010 standartlarının gerektirdiği 1/24 saatlik temas süresi sonundaki > 4 log düşüşü sağladığı belirlenmiştir (Tablo 4.1, 4.2 ve 4.3).

Malzemeye uygulanmış SilQUAT bileşiğinin antibakteriyel aktivitesi JIS Z2801:2010 testi ile değerlendirilmiştir. İşlenmiş eşyanın antibakteriyel kabul edilmesi için JIS Z2801:2010 testine göre $R > 2$ değerini sağlaması gerekir. Spreylenme ile SilQUAT bileşiği uygulanmış CTP levhaların 24 saatlik temas süresi sonunda $R > 4$ değeri ile *S. aureus*, *E. coli* ve hedef mikroorganizma olan *L. pneumophila* bakterilerine karşı güçlü antibakteriyel aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Tablo 4.4, 4.5, 4.6).

Endüstride CTP levhaların reçine ve jel kaplama olmak üzere iki farklı dolgu malzemesi ile üretilebildiği bilinmektedir. Her iki malzeme grubuna da SilQUAT bileşiği uygulanarak dolgu materyalinin bileşiğe girişim yapıp yapmadığı incelenmiş ve her iki malzemenin de $R > 2$ değerini sağladığı belirlenmiştir (Tablo 4.7. ve 4.8.). R değerinin daha yüksek olması sebebiyle model sistem deneylerinde reçine dolgulu CTP levhalar kullanılmıştır.

In vitro koşullarda işlenmiş eşya olarak aktivitesi doğrulanmış reçine dolgululu CTP levhalara, SilQUAT bileşiği % 3 oranında uygulanarak biyofilme karşı etkinliği model soğutma kulesi sistemi içerisinde test edilmiştir.

Biyofilm oluşumu ve olgunlaşması birkaç aşamada gerçekleşmekte ve her bir aşamada biyofilmdeki fizyolojik ve metabolik değişiklikler nedeni ile biyofilmin antibakteriyel ajanlara hassasiyetinin değişkenlik gösterdiği bilinmektedir (Brown ve Gilbert., 1993; Davies, 2003). Bu nedenle SilQUAT ile işlenmiş CTP levhaların etkinliği altı ay süresince izlenmiştir.

Saha koşullarının simülasyonu için, laboratuvar ortamında kurulan model sistemin sıcaklık, pH, toplam çözünmüş madde miktarı gibi parametrelerinin gerçek soğutma kulesi ile uyumlu olması gerekmektedir. Çalışmamızda kullanılan model sistem suyunun pH, çözünmüş oksijen ve TÇM değerlerinin soğutma kulesi suyu ile benzerlik gösterdiği belirlenmiştir (Tablo 4.11., Türetgen ve diğ., 2012). TÇM düzeyinin artmaması ve buharlaşan suyu tamamlamak için gerçek kule koşullarındakine benzer şekilde, model sisteme haftalık olarak su beslemesi yapılmıştır.

Model sisteme yerleştirilen antibakteriyel CTP levhalara uygulanan bileşiğin sıcaklık ve sirkülasyon ile suya karışıp karışmadığını belirlemek üzere model sistem suyundan da aylık örneklemeler yapılmıştır. Sistem suyunda 6 ay süresince heterotrofik bakteri ve *L. pneumophila* sayısının düşmemesi, mikrobiyal ATP değerlerinin > 300 RLU'dan yüksek olması ve su analizlerinde quat değerlerinin 0 çıkması SilQUAT bileşiğinin sıcaklık ve sirkülasyon ile suya karışmadığını göstermektedir (Şekil 4.1, Tablo 4.10.)

Endüstriyel su sistemlerinde ıslah programının etkinliği, biyofauling durumunun uygun mikrobiyolojik tekniklerle analizini gerektirir (Cloete, 2003, Tanji ve diğ., 2007). Çalışmalarda klasik kültür yöntemiyle bakteri sayısının belirlenmesi yaygın kullanılan bir yöntemdir (Srinivasan ve diğ., 1995). Ancak mikroorganizmanın ortam şartlarından kaynaklanan metabolik farklılaşmaları, kültüre edilemeyen forma geçmeleri deneylerde yanlış- eksik sonuca neden olur. Ayrıca bu yöntemin uzun zaman alması ve organizmaların % 10'undan azının gelişmesine izin vermesi gibi dezavantajları olduğu için alternatif testler denenmelidir. Literatürde kültür yöntemi ile eş zamanlı olarak toplam ve serbest ATP'nin ölçülmesi ve özel floresan boya ile canlı mikroorganizma popülasyonlarının belirlenmesi metotları da kullanılmaktadır (Bredholt ve diğ., 1999; Bjarnsholt ve diğ., 2013; Ailijiang ve diğ., 2016; Stiefel ve diğ., 2016).

Plak sayım sonuçlarına göre, antibakteriyel CTP levhaların kontrol grubuna kıyasla heterotrofik bakteri sayısında % 95,73-99,16 arasında; kültüre edilebilir *L. pneumophila* sayısında % 98,74-99,52 arasında düşüş sağladığı belirlenmiştir (Şekil 4.3.).

Antibakteriyel CTP kuponlarında mikrobiyal ATP miktarı 1., 4. ve 6. aylarda ≤ 118 RLU/cm² olarak ölçülürken 2, 3, ve 5. aylarda < 50 RLU/cm² olarak ölçülmüştür (Tablo 4.10.). Deney grubu mikrobiyal ATP miktarının kontrol örneklerindeki mikrobiyal ATP miktarına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düşüş sağladığı belirlenmiştir ($p < 0,05$).

Kültür yönteminde besin şoku, antibakteriyel ajan varlığı gibi stres koşullarında bazı bakteriler koloni oluşturmamaktadır. Bu bakteriler VBNC fazına geçerek koloni oluşturmamalarına rağmen metabolik aktivitelerine devam etmektedir (Ayaz ve Erol, 2004). Çalışmamızda kültürden bağımsız olarak canlılığın tespitinde SYTO 9 ve propidium iyodür (canlı/ölü) floresan boyama yöntemi kullanılmıştır. Floresan boyama sonuçlarına göre, aşındırma yapılmamış örneklerde canlılık oranı kontrol kuponlarında % 90 iken, deney grubunda % 37,01-54,96 arasında seyretmiştir.

Yüzeğe uygulanacak biyosit seçiminde önemli kriterlerden biri de kalıcılığı sağlamasıdır. Kalıcı biyosit uygulamaları, ekonomik maliyeti düşürmekte ve etkin dezenfeksiyon stratejilerini kolaylaştırmaktadır. SilQUAT bileşiği uygulanmış örnekler antibakteriyel etki sağlamıştır. Bununla beraber, SilQUAT bileşiğinin antibakteriyel aktivitesi prensip olarak bileşiğin uzun hidrofobik ucunun mikroorganizma ile ilişki kurmasına dayanmaktadır. Zaman içerisinde biyofilm tabakasının kalınlaşması, ölü-canlı mikroorganizma birikimi nedeni ile bileşiğin aktif antibakteriyel uçlarının üzerinin örtülmesi bileşiğin aktivitesini etkilemektedir. Ancak mekanik temizlik yapıldığında aktif uçlar rejenere olarak bileşiğin antibakteriyel aktivitesi devam etmektedir. Bu nedenle çalışmamızda 6 ay süresince aşındırma testleriyle SilQUAT bileşiğinin kalıcılığı ve yüzey aktif uçlarının aktivitesi test edilmiştir. Bu amaçla, sistemden çıkartılan CTP kuponlarına modifiye edilmiş EPA #01-1A protokolüne göre kuru ve nemli aşındırma uygulanarak fiziksel temizlik yapılmış, üzerindeki biyofilm tabakası giderilmiştir. Nitekim, heterotrofik bakteri sayısındaki düşüş 6. ayda biyofilm kalınlaşması ile % 95'e gerilerken; aşındırma yapılmış örneklerde $> \% 99.9$ olarak korunmuştur (Şekil 4.5., Tablo 4.12.).

Aşındırma işlemi sonrasında CTP kuponlarının antibakteriyel aktivitesi JIS Z2801:2010 metodu modifiye edilerek test edilmiştir. Aşındırma sonrası antibakteriyel CTP kuponlarının R değerinin heterotrofik bakteriler için 2,91- 4,05; *L. pneumophila* bakterisi için 2,46-3 arasında olduğu belirlenmiştir (Tablo 4.12.).

Mikrobiyal yükün belirlenmesinde kullanılan bir diğer metot olan ATP miktar ölçümünde; mikrobiyal ATP miktarı aşındırma yapılmış antibakteriyel CTP kuponlarında 10-90 RLU/cm², aşındırma yapılmış kontrol örneklerinde 158-256 RLU/cm² olarak ölçülmüştür (Tablo 4.14.).

Aşındırma yapılmış antibakteriyel CTP kuponlarındaki canlılık oranı ≤ % 21,46-35,07; kontrol CTP kuponlarında ≥ % 86,68-97.69 olarak belirlenmiştir (Tablo 4.13.).

Taramalı elektron mikroskop görüntülerinde de aşındırma yapılmamış örneklerde yoğun biyofilm tabakası; fiziksel temizlik uygulanmış antibakteriyel CTP kuponları üzerindeki biyofilm tabakasında azalma görülmüştür (Şekil 4.7., Şekil 4.8.).

Deney sonuçlarının normal dağılım gösterdiği Kolmogorov- Smirnov testi kullanılarak analiz edilmiştir ($p > 0,05$). Çalışmamızda aşındırma yapılmış ve yapılmamış SilQUAT'lı CTP levhalarına uygulanan yöntemler arasındaki ilişki *t* testi istatistiksel analiz yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Heterotrofik bakteri sayısı ve % canlılık oranı arasında anlamlı fark belirlenirken ($p < 0,05$), *Legionella* örnekleri ve ATP değerlerinde p değeri $> 0,05$ olarak hesaplanmıştır. ATP ölçüm yönteminde su ve biyofilmdeki bakteriler dışında bulunan diğer prokaryotik ve ökaryotik mikroorganizmaların da ATP miktarları ölçüldüğü için p değerinin $>0,05$ olması normal olarak değerlendirilmiştir. Uygulanan diğer test metotlarında *Legionella* sayısı ve ATP miktarı antibakteriyel ve kontrol CTP levhalarında uyumluluk göstermiştir (Şekil 4.3., Şekil 4.6. ve Tablo 4.10., Tablo 4.14.).

Biyofilmin tayini ve antibakteriyel aktivitenin değerlendirilmesinde farklı metotları bir arada kullanımı, sonuçların doğru şekilde değerlendirilmesini ve etkin dezenfeksiyon stratejilerinin geliştirilmesine olanak sağlamaktadır. Plak sayım yöntemi, ATP ve floresan boyama yöntemlerinin sonuçları arasındaki ilişki Spearman Rank Korelasyon analiz metodu ile değerlendirilmiş ve aralarında güçlü pozitif korelasyon olduğu belirlenmiştir ($0,1 < r < 1$). Deneysel sonuçları arasında pozitif korelasyon olması aynı düzlemde uygulanan metodların

paralel sonuçlar verdiğini göstermektedir. Analiz sonuçları tez çalışmasının çıktılarını güçlendirmiştir.

Soğutma kulelerinde mikrobiyolojik kontrol için tek başına bir çözüm söz konusu değildir. Ülkemizde 13 Mayıs 2015 yılında Resmi Gazete’de yayınlanan “Lejyoner Hastalığı Kontrol Usul ve Esasları” adlı yönetmelikte de soğutma kulelerinde, düzenli biyosit uygulanmasının yanında yılda iki kez mekanik temizlik yapılması gerektiği belirtilmiştir. Ayrıca kule dezenfeksiyonu için etkin biyosit kontrol programlarında, temiz soğutma kulesi suyu parametreleri $< 10^4$ kob/ml heterotrofik bakteri sayısı; < 10 kob/ml *Legionella* sayısı ve < 300 RLU ATP değeri olarak bilinmektedir (Davenport ve diğ., 2002, Australian/ New Zealand Standard Guide, 2011). Buna karşın, yüzey tipi, ortam koşulları, mikrobiyal türler gibi birçok faktöre bağlı olarak her biyofilm, kendine özgü kabul edilmekte ve biyofilm için standart parametre bulunmamaktadır. Etkin dezenfeksiyonun değerlendirilebilmesi için biyofilmdeki mikrobiyal yükün alt ve üst sınır değerlerinin belirlenmesine ihtiyaç duyulmaktadır (Chylkova ve diğ., 2017).

Özetle çalışmamızdan elde edilen veriler doğrultusunda:

- Aşındırma yapılmış ve yapılmamış SilQUAT kaplı CTP levhaların kontrole kıyasla heterotrofik bakteri ve *Legionella* sayısı, ATP ve % canlılık değerlerinde önemli düşüş sağladığı belirlenmiştir.
- Çalışmamızda kullanılan soğutma kulesi yapı malzemesinin, paralel yürütülen laboratuvar testlerinde etkili antibakteriyel aktivite göstermesi saha uygulamalarında kullanılabileceğini göstermiştir. Bu sayede:
 - Soğutma kulesinden kaynaklanan patojen bulaşma riskinin en aza indirgeneceği,
 - İlk tutunduğu alanda mikrobiyal yükü azaltarak biyofilm kökenli korozyon, sistem tıkanıklıkları, ısı transferinin azalması gibi nedenlerden kaynaklanan ekonomik zararların önüne geçilebileceği,
 - Uygulanan biyosit miktarının düşürülmesi ve buna bağlı olarak kule suyu deşarjı ile oluşan sekonder çevre kirliliğinin azaltılmasına katkıda bulunulabileceği ön görülmüştür.

KAYNAKLAR

- Abedon, S., 2011, Phase Therapy Pharmacology: Calculating phage dosing, *Advances in Applied Microbiology*, 77, 1-40.
- Abushaban, A., Mangal, M. N., Salinas- Rodriguez, S. G., Nnebuo, C., Mondal, S., Goueli, S. A., Schippers, J. C., Kennedy, M. D., 2017, Direct measurement of ATP in seawater -and application of ATP to monitor bacterial growth potential in SWRO pre-treatment systems, *Desalination and Water Treatment*, 99, 91-101.
- Ailijiang, N., Chang, J., Liang, P., Li, P., Wu, Q., Zhang, X., Huang, X., 2016, Electrical stimulation on biodegradation of phenol and responses of microbial communities in conductive carriers supported biofilms of the bioelectrochemical reactor, *Bioresource Technology*, 201, 1-7.
- Akan, E., Kınık, Ö., 2014, Biyofilm oluşum mekanizması ve biyofilmlerin gıda güvenliğine etkisi, *Journal of Food and Feed Science- Technology*, 14, 42-51.
- Arda, M., 2000, *Temel Mikrobiyoloji*, Medisan, Ankara, 46.
- ASTM E645-13., 2013, Standart practice for evaluation of microbiocides used in cooling water systems, *ASTM International*, West Conshohocken, PA; www.astm.org. DOI: 10.1520/E0645-13.[Ziyaret Tarihi: 4 Ocak 2018].
- Standards Australia 2011. AS/NZS 3666.1 Air-handling and water systems of buildings- Microbial control - Part 1: Design, installation and commissioning.
- Ayaz, N. D., Erol, İ., 2004, Canlı fakat kültürü yapılamayan bakteriler ve gıda güvenliği yönünden önemi, *Etilik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 15 (1-2), 61-74.
- Barkow, G., 2014, *Use of biocidal surfaces for reduction of healthcare acquired infections*, Springer, Swizerland, ISBN: 978- 3-319- 08057-4 (e-book).
- Bhadra, C. M., Werner, M., Baulin, V. A., Truong, V. K., Al Kobaisi, M., Nguyen S. H., Balcytis, A., Juodkasis, S., Wang, J. Y., Mainwaring, D. E., Crawford, R. J., Ivanova, E. P., 2018, Subtle variations in surface properties of black silicon surfaces influence the degree of bactericidal efficiency, *Nano- Micro Letters*, 10, 36.
- Bhatia A., 2001, *Cooling Towers*,
<https://www.cedengineering.com/userfiles/COOLING%20TOWER.pdf> [Ziyaret Tarihi: 7 Aralık 2017].
- Bjarnsholt, T., Cioful, O., Molin, S., Givskov, M., Høiby, N., 2013, Applying insights from biofilm biology to drug development- Can a new approach be developed ?, *Nature Reviews Drug Discovery*, 12, 791–808.

- Borges, V., Nunes, A., Sampaio, D. A., Vieira, L., Machado, J., Simões, M. J., Gonçalves, P., Gomes, J. P., 2016, *Legionella pneumophila* strain associated with the first evidence of person-to-person transmission of Legionnaires' disease: a unique mosaic genetic backbone, *Scientific Reports*, 6 (26), 261.
- Bredholt, S., Maukonen, J., Kujanpää, K., Alanko, T., Olofson, U., Husmark, U., Sjöberg, A. M., Wirtanen, G., 1999, Microbial methods for assessment of cleaning and disinfection of food-processing surfaces cleaned in a low-pressure system, *European Food Research and Technology*, 209 (2), 145-152.
- Brinker, C. J. ve Scherer, G. W., 1990, Sol-gel science: The physics and chemistry of sol-gel processing, *Academic Press*, 0121349705.
- Brown, M.R.W., Gilbert, P., 1993, Sensitivity of biofilms to antimicrobial agents, *Journal of Applied Bacteriology Symposium Supplement*, 74, 87-97.
- Carducci, A., Verani, M., Battistini, R., 2009, *Legionella* in industrial cooling towers: Monitoring and control strategies, *Applied Microbiology*, 50, 24-29.
- Chylkova, T., Cadena, M., Ferreira, A., Pitesky, M., 2017, Susceptibility of *Salmonella* biofilm and planktonic bacteria to common disinfectant agents used in poultry processing, *Journal of Food Protection*, 80 (7), 1072- 1079.
- Cliff, N. N., Jaynes, B. S., Song, Z., Guinta, A., Feese, E., Gande, M., 2014, Improved antimicrobial effects in polymers, *Google Patent*, WO2014099923A1.
- Cloete, T. E., 2003, Biofouling control in industrial water systems: What we know and what we need to know ?, *Materials and Corrosion*, 54, 520–526.
- Coniglio, M. A., Melada, S., Yassin, M. H., 2015, Monochloramine for controlling *Legionella* in biofilms: How much we know?, *Journal of Nature and Science*, 1(2 e44),1-4.
- Cunha, B. A., Burillo, A., Bouza, E., 2016, Legionnaires' disease, *The Lancet*, 387 (10016), 376-385.
- Çınar, A., Çınar, A., 2016, Antimikrobiyal yüzeyli cem elyaf takviyeli polyester (CTP) levha üretim yöntemi, *Türk Patent Enstitüsü*, Buluş Patent Sınıfı: B32B 27/36 (2009.01).
- Çoban, M. T., 2011, Kapalı ısı değiştiricili ters ve dik akışlı soğutma kulelerinin ısı değişimi modellenmesi ve dizaynı, *10. Ulusal Tesisat Mühendisliği Kongresi*, 13-16 Nisan 2011, İzmir, İzmir, Türkiye Makine Mühendisleri Odalar Birliği (TMMOB).
- Daood, D., Yiu, C. K. Y., Burrow, M. F., Niu, L. N., Tay, F. R., 2017, Effect of a novel quaternary ammonium silane cavity disinfectant on durability of resin- dentine bond, *Journal of Dentistry*, 60, 77- 86.
- Davenport, K., Wayman, D., Michie, I., 2002, Using ATP to determine biocide efficacy, *By Biotrace International*, Technical Paper, Issue Ref: MLM197 TEP005.

- Davies, D., 2003, Understanding biofilm resistance to antibacterial agent, *Nature Reviews Drug Discovery*, 2, 114-122.
- De Kwaadsteniet, M., Botes, M., Cloete, T. E., 2011, Application of nanotechnology in antimicrobial coating in the water industry, *Nano*, 6 (5), 395-407.
- Di Pippo F., Di Gregorio, L., Congestri, R., Tandoi, V., Rossetti, S., 2018, Biofilm growth and control in cooling water industrial systems, *FEMS Microbiology Ecology*, 94 (5), DOI: 10.1093/femsec/fiy044.
- Ditommaso, S., Giacomuzzi, M., Ricciardi, E., Zotti, C. M., 2016, Efficacy of a low dose of hydrogen peroxide (peroxy Ag⁺) for continuous treatment of dental unit water lines: Challenge test with *Legionella pneumophila* Serogroup 1 in a simulated dental unit waterline, *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 13 (7),745.
- Doğruöz- Güngör, N., 2014, Endüstriyel sistemlerde mikrobiyolojik korozyon ve önlenmesi, *Nevşehir Bilim ve Teknolojisi Dergisi*, 3 (1), 26-38.
- Donlan, R. M., 2002, Biofilm: Microbial life on surfaces, *Emerging Infectious Diseases*, 8 (9), 881- 890.
- Elsmore, R., 1993, Microbiocides and the control of *Legionella*, p. 250-253, *Legionella* current status and emerging perspectives, ASM 1325 Massachusetts Ave, N. W. Washington D.C., 1-55581-055-1.
- EPA #01-1A Protocol for Residual Self-Sanitizing Activity of Dried Chemical Residues on Hard, Non-Porous Surfaces: https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-09/documents/cloroxpcol_final.pdf [Ziyaret Tarihi: 6 Haziran 2017].
- Falkinham, J. O., Hilborn, E. D., Arduino, M. J., Pruden, A., Edwards, M. A., 2015, Epidemiology and ecology of opportunistic premise plumbing pathogens: *Legionella pneumophila*, *Mycobacterium avium* and *Pseudomonas aeruginosa*, *Environmental Health Perspect*, 123 (8), 749-758.
- Ferreira, C., Pereira, A. M., Melo, L. F., Simões, M., 2010, *Advances in industrial biofilm control with micro- nanotechnology*, Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology, In: Méndez-Vilas, A.,2, Formatex Research Center, Spain, 845-854.
- Feuillolay, C., Haddioui, L., Verelst, M., Furiga, A., Marchin, L., Rogues, C., 2018, Antimicrobial activity of metal oxide microspheres: An innovative process for homogeneous incorporation into materials, *Journal of Applied Microbiology*, DOI: 10.1111/jam.13752.
- Flemming, H. C., Neu, T. R., Wozniak, D. J., 2007, The EPS matrix: The “house of biofilm cells”, *Journal of Bacteriology*, 189 (22), 7945–7947.

- Franzin, L., Cabodi, D., Fantino, C., 2002, Evaluation of the efficacy of ultraviolet irradiation for disinfection of hospital water contaminated by *Legionella*, *Journal of Hospital Infection*, 51(4), 269.
- Gagnon, G. A., Slawson, R. M., 1999, An efficient biofilm removal method for bacterial cells exposed to drinking water, *Journal of Microbiological Methods*, 34, 203- 214.
- Geary, D. F., 2002, Ashrae Guideline 12-2000, p. 376-384, *Legionella*, ASM Press, Washington D.C., 1-5581-230-9.
- Gerba, C. P., 2015, Quaternary ammonium biocides: Efficacy in application, *Applied and Environmental Microbiology*, 81 (2), 464- 469.
- Ghanizadeh, G., Mirmohamadlou, A., Esmaeli, D., 2016, Predictive parameters of *Legionella pneumophila* occurrence in hospital water: HPCs and plumbing system installation age, *Environmental Monitoring and Assessment*, 188, ,536-545.
- Gottenbos, B., Van der Mei, H. C., Klatter, F., Nieuwenhuis, P., Busscher, H. J., 2002, In vitro and in vivo antimicrobial activity of covalently coupled quaternary ammonium silane coatings on silicone rubber, *Biomaterials*, 23, 1417–1423.
- Green, J. D., Bickner, S., Carter, P. W., Fulghum, T., Luebke, M., Nordhaus, M. A., Strathmann, S., 2011, Antimicrobial testing for surface-immobilized agents with a surface-separated live–dead staining method, *Biotechnology and Bioengineering*, 108, 231-236.
- Güvensen, N. C., Ekmekcioğlu, S., 2016, Biyofilm kontrolünde biyositler ve etki tarzları, *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi TR*, 14 (1), 1-19.
- Huang, H. I., Shih, H. Y., Lee, C. M., Yang, T. C., Lay, J. J., Lin, Y. E., 2008, In vitro efficacy of copper and silver ions in eradicating *Pseudomonas aureginosa*, *Stenotrophomonas smaltophilia* and *Acinetobacter baumannii*: Implications for on-site disinfection for hospital infection control, *Water Research*, 42(1-2), 73-80.
- Huband, M. D., Bradford, P. A., Otterson, L. G., Basarab, S., Kutschke, A. C., Giacobbe, R. A., Patey, S. A., Alm, R. A., Jhonstone, M. R., Potter, M. E., Miller, P. F., Mueller, J. P., 2015, *In Vitro* antibacterial activity of AZD0914, a new spiropyrimidinetrione DNA Gyrase/Topoisomerase inhibitor with potent activity against Gram-Positive, fastidious Gram-Negative, and atypical bacteria, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 59 (1), 467-474.
- Japanese Industrial Standard Z2801: 2010 Antimicrobial products-Test for antimicrobial activity and efficacy [Ziyaret Tarihi: 30 Mayıs 2017].
- Jia, R., Li, Y., Al-Mahamedh, H. H., Gu, T., 2017, Enhanced biocide treatments with D-amino acid mixtures against a biofilm consortium from a water cooling tower, *Frontiers in Microbiology*, 8 (1538), DOI: 10.3389/fmicb.2017.01538.
- Kalan, O., 2009, *Lejyoner hastalığının istatistiksel risk analizi*, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi.

- Kara, M., Uyaner, M., 2017, Filaman sarım ile üretilen CTP kompozit borularda tabaka sayısının teğetsel gerilme dayanımına etkisi, *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 21(2), 666-672.
- Kim, B. R., Anderson, J. E., Mueller, S. A., Gaines, W. A., Kendall, A. M., 2002, Literature review-efficacy of various disinfectants against *Legionella* in water systems, *Water Research*, 39(51), 1-12.
- Kim, K. H., Kabir, E., Jahan, S. A., 2017, Airborne bioaerosols and their impact on human health, *Journal of Environmental Science*, 01307, 13.
- Kirmeyer, G. J., LeChevallier, M., Barbeau, H., Martel, K., Thompson, G., Radder, L., Klement, W., Baribeau, H., Flores, A., 2004, *Optimizing Chloramine Treatment – Second Edition*, Awwa Research Foundation and American Water Works Association, Denver, Colorado, ISBN: 1-58321-331-7.
- Kool, L. J., 2002, Control of *Legionella* in drinking water systems: Impact of monochloramine, p. 411-418, *Legionella*, ASM Press, Washington D.C. 1- 55581-230-9.
- Kozak N. A., Benson R. F., Brown E., Alexander, N. T., Taylor Jr, T. H., Shelton, B. G., Fields, B. S., 2009, Distribution of lag-1 alleles and sequence-based types among *Legionella pneumophila* serogroup 1 clinical and environmental isolates in the United States, *Journal of Clinical Microbiology*, 47, 2525–2535.
- Lee, W. H., Wahman, D. G., Bishop, P. L., Pressman, J. G., 2011, Free chlorine and monochloramine application to nitrifying biofilm: Comparison of biofilm penetration, activity and viability, *Environmental Science Technology*, 45(4), 1412-1419.
- Lejyoner Hastalığı Kontrol Usul ve Esasları Hakkında Yönetmelik, <http://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2015/05/20150513-4.htm> [Ziyaret Tarihi: 8 Ağustos 2017].
- Lin, Y. E., Stout, J. E., Yu, V. L., 2011, Controlling *Legionella* in hospital drinking water: An evidence-based review of disinfection methods, *Infect Control Hospital Epidemiology*, 32(2), 166- 173.
- Lin, Y. E., Vidic, R. D., Stout, J. E., Yu, V. L., 2002, Negative effect of high pH on biocidal efficacy of copper and silver ions in controlling *Legionella pneumophila*, *Applied Environmental Microbiology*, 68(6), 2711-2715.
- Liu, Z., Stout, J. E., Tedesco, L., Boldin, M., Hwang, C., Yu, V. L., 1995, Efficacy of ultraviolet light in preventing *Legionella* colonization of a hospital water distribution system, *Water Research*, 29(10), 2275-2280.
- Ludensky, M., 2004, *Microbiological control in cooling water systems*, Directory of Microbicides for the Protection of Materials a Handbook, In: Paulus, W., Kluwer Academic Publishers, Netherlands, ISBN-13: 978-1402028175, 121-139.

- Ma, J., Jiang, L., Chen, Y., Kang, J., 2017, Activities and mechanisms of eugenol and cinnamaldehyde against *Legionella pneumophila*, *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 10 (12), 16460-16467.
- Mallegol, J., Fernandes, P., Melano, R. G., Guyard, C., 2014, Antimicrobial activity of solithromycin against clinical isolates of *Legionella pneumophila* Serogroup 1, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 58(2), 909-915.
- Menceloğlu, Y. Z., Acataş, K., Simsek, E. ve Taralp, A., 2011, Preparation of substantially quaternized ammonium organosilane composition and selfstabilizing aqueous solution thereof, PCT/IB2010/051747.
- Miettinen, I., Schaule, G., 2003, Surveillance and control of microbiological stability in drinking water distribution Networks, *Handbook for analytical methods and operational criteria for biofilm reactors (Version 1.0)*, EVK1-CT-2002-00108.
- Miyanaga, K., Terashi, R., Kawai, H., Unno, H., Tanji, Y., 2007, Biocidal effect of cathodic protection on bacterial viability in biofilm attached to carbon steel, *Biotechnology and Bioengineering*, 97(4), 850–857.
- Moriarty, B. E., 2015, *On-Line Monitoring of Water Treatment Chemicals*, Mineral Scales and Deposits, In: Amjad, Z., Demadis, K., Chapter 31, Elsevier, U.S.A, ISBN: 978-0-444-63228-9, 737-745.
- Mozirandi, W., Mukanganyama, S., 2017, Antibacterial activity and mode of action of *Vernonia adoensis* (Asteraceae) extracts against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*, *Journal of Biologically Active Products from Nature*, 7 (5), 341-357.
- Muangnoi, T., Asvapoositkul, W., Wongwiset S., 2007, An exergy analysis on the performance of a counterflow wet cooling tower, *Applied Thermal Engineering*, 27 (5-6), 910-917.
- Muraca, P. W., Yu, V. L., Goetz, A., 1990, Disinfection of water distribution systems for *Legionella*: A review of application procedures and methodologies *Infection Control Hospital Epidemiology*, 11(2), 79-88.
- Muraca, P., Stout, J. E., Yu, V. L., 1987, Comparative assessment of chlorine, heat, ozone and UV light for killing *Legionella pneumophila* within a model plumbing system, *Applied Environmental Microbiology*, 53(2), 447-453.
- Murata, H., Koepsel, R. R., Matyjaszewski, K., Russell, A. J., 2007, Permanent, non-leaching antibacterial surfaces- 2: How high density cationic surfaces kill bacterial cells, *Biomaterials*, 28 (32), 4870-4879.
- Nguyen, J. N. T., Harbison, A. M., 2017, Scanning electron microscopy preparation and imaging, *Methods Molecular Biology*, 1606, 71-84.

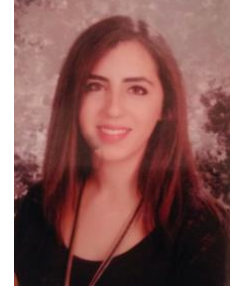
- Nhu- Nguyen, T. M., Ilef, D., Jarraud, S., Rouil, L., Campese, C., Che, D., Haeghebaert, S., Ganiayre, F., Marcel, F., Etienne, J., Desenclos, J. C., 2006, A community-wide outbreak of legionnaires disease linked to industrial cooling towers- How far can contaminated aerosols spread ?, *The Journal of Infectious Diseases*, 193(1), 102-111.
- Oğuzhan- Yıldız, P., Yangılar, F., 2014, Ozon ve gıda endüstrisinde kullanım alanları, *Bülent Ecevit Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 3(1), 94-101.
- Ohashi, K., Miyake, K., Tomiyama, K., Shimizu, T., Yoshino, N., Yoshiharu, M., Hamada, N., Teranaka, T., Nihei, T., 2017, antimicrobial activity of novel silane coupling agent consisting of a quaternary ammonium salt using a polymicrobial biofilm model, *Journal of Dental Health, Oral Disorders & Therapy*, 7 (4), 246.
- Özerol, I. H., Bayraktar, M., Çizmecci, Z., Durmaz, R., Akbaş, E., Yıldırım, Z., Yoloğlu, S., 2006, Legionnaire's disease: a nosocomial outbreak in Turkey, *Journal of Hospital Infection*, 62, 50-57.
- Personnic, N., Striednig, B., Hilbi, H., 2018, *Legionella* quorum sensing and its role in pathogen-host interactions, *Current Opinion in Microbiology*, 41, 29-35.
- Prussin, A. J., Schwake, D. O., Marr, L. C., 2017, Ten questions concerning the aerosolization and transmission of *Legionella* in built environment, *Building and Environment*, 123, 684-695.
- Püle, D., 2016, Conventional and alternative disinfection methods of *Legionella* in water distribution systems – Review, *Construction Science*, 19, 21–26.
- Quigley, C., 1996, Legionnaires' disease, *Microbiology Europe*, 4(3), 10–14.
- Schlei- Peters, I., Wichmann, M. G., Matthes, I. G., Gundlach, F. W., Spengler, T. S., 2018, Integrated material flow analysis and process modeling to increase energy and water efficiency of industrial cooling water, *Journal of Industrial Ecology*, 22(1), 41-54.
- Sedzro, M. D., Banu, R. A., Akrong, M. O., 2017, Evidence based review of *Legionella* elimination in building water systems, *International Journal of Water Resources and Environmental Engineering*, 9 (1), 22-32.
- Smith, I., Fricker, E. J., Eccles, J., Searle, R., 2004, Laboratory observations of biocide efficacy in model cooling tower systems, *ASHRAE Transactions: Research*, 4723 (RP-954), 314–324.
- Srinivasan, R., Stewart, P. S., Griebe, T., Chen, C. I., Xu X., 1995, Biofilm parameters influencing biocide efficacy, *Biotechnology and Bioengineering*, 46, 553-560.
- Stiefel, P., Rosenberg, U., Schneider, J., Mauerhofer, S., Maniura-Weber, K., Ren, Q., 2016, Is biofilm removal properly assessed? Comparison of different quantification methods in a 96-well plate system, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100 (9), 4135–4145.

- Subbaram, K., Kannan, H., Masadeh, M. M. A., 2017, Isolation, identification, characterization and antibiotic sensitivity profile of pathogenic *Legionella pneumophila* isolates from different water sources, *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 7 (5), 411-415.
- Şanlı N. Ö., Menceloğlu Y. Z., Bal S., "Antimic® ile İşlenmiş Antibakteriyel Seramik Örneklerinin Kalıcı Aktivitesinin Kantitatif Olarak EPA Protokol # 01-1A* Yöntemi ile Belirlenmesi", 3. *Uluslararası Biyosidal Kongresi*, ANTALYA, TÜRKİYE, 22-25 Kasım 2016, 1 (1).1,
- Şanlı N. Ö., Menceloğlu Y. Z., Bal S., 2017, Effectiveness of the Antimic® biocide against nosocomial bacteria specified by different standard methods, *European Journal of Biology*, 76, 1-5.
- Şanlı- Yürüdü, N. Ö., 2009, *Soğutma Kulesi Su Sisteminde Biyofilm Tabakasına Karşı Biyosit Etkinliğinin İncelenmesi*, Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi.
- Şanlı- Yürüdü, N. Ö., 2015, Soğutma kulesi dezenfeksiyonunda iş sağlığı ve güvenliği, *Tesisat Mühendisliği Dergisi*, 146, 13-23.
- Şanlı- Yürüdü, N. Ö., 2016, Assessment of the effectiveness of different biocides for biofilm eradication, *The Turkish Journal of Occupational / Environmental Medicine and Safety*, 1(4), 72- 75.
- Şanlı- Yürüdü, N. Ö., Kimiran- Erdem, A., Çotuk, A., 2007, Studies on the efficacy of chloramine t trihydrate (*n*- chloro-*p*-toluenesulfonamide) against planktonic and sessile populations of different *Legionella pneumophila* strains, *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 210, 147-153.
- Şanlı, N. Ö., 2004, *Legionella pneumophila* üzerine bazı biyositlerin etkisi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi.
- Tanji, Y., Nishihara, T., Miyanaga, K., 2007, Monitoring of biofilm in cooling water system by measuring lactic acid consumption rate, *Biochemical Engineering Journal*, 35, 81–86.
- Türetgen, İ., Şanlı-Yürüdü, N. Ö., Norden, I., 2012, Biyofilm formation comparison of the SANIPACKING® cooling tower fill material against standard polypropylene fill material in a recirculating model water system, *Turkish Journal of Biology*, 36, 313-318.
- Vural, T., 2014, *Legionella* infeksiyonları, *ANKEM Dergi*, 28(Ek 2), 167-176.
- Walker, J. T., Roberts, A. D., Lucas, V. J., Roper, M. A., Brown, R. G., 1999, Quantitative assessment of biocide control of biofilms including *Legionella pneumophila* using total viable counts, fluorescence microscopy, and image analysis, *Methods in Enzymology*, 310, 629-677.

- Wéry, N., Bru-Adan, V., Minervini, C., Delgenés, J. P., Garrelly, L., Godon, J. J., 2008, Dynamics of *Legionella* spp. and bacterial populations during the proliferation of *L.pneumophila* in a cooling tower facility, *Applied and Environmental Microbiology*, 78 (10), 3030-3037.
- Whiley, H., 2016, *Legionella* risk management and control in potable water systems: Argument for the abolishment of routine testing, *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 14 (1), 12.
- Xue, Y., Xiao, H., Zhang, Y., 2015, Antimicrobial polymeric materials with quaternary ammonium and phosphonium salts, *International Journal of Molecular Sciences*, 16 (2), 3626- 3655.
- Yadav, S. S., Priyanka, Y., Archana, C. H., Gayatri, N., Gopi, P., 2015, ABCDE OF DUWL (Alternate Biofilm Chair side Disinfection Efficacy of Dental Unit Waterline), *EC Dental Science*, 1 (3), 145-151.
- Yamamoto, H., Ezaki, T., Ikedo, M., Yabuuchi, E., 1991, Effects of biocidal treatments to inhibit the growth of *Legionellae* and other microorganisms in cooling towers, *Microbiology and Immunology*, 35 (9), 795-802.
- Zanini, S., Polissi, A., Maccagni, E. A., Dell'Orto, E. C., Liberatore, C., Riccardi, C., 2015, Development of antibacterial quaternary ammonium silane coatings on polyurethane catheters, *Journal of Colloid and Interface Science*, 451, 78-84.
- Zhang, Z., Stout, J. E., Yu, V. L., Vidic, R., 2008, Effect of pipe corrosion scales on chlorine dioxide consumption in drinking water distribution systems, *Water Research*, (1-2), 129-36.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Seval BAL
Doğum Yeri	Üsküdar/İstanbul
Doğum Tarihi	18.06.1992
Uyruğu	<input checked="" type="checkbox"/> T.C. <input type="checkbox"/> Diğer:
Telefon	0538 614 6724
E-Posta Adresi	sevalbal3@gmail.com
Web Adresi	



Eğitim Bilgileri	
Lisans	
Üniversite	İstanbul Üniversitesi
Fakülte	Fen Fakültesi
Bölümü	Biyoloji
Mezuniyet Yılı	27.06.2014

Yüksek Lisans	
Üniversite	İstanbul Üniversitesi
Enstitü Adı	Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Biyoloji
Programı	Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji

Makale ve Bildiriler
Şanlı N. Ö., Menceloğlu Y., Bal S., 2017, Effectiveness of the Antimic® biocide against nosocomial bacteria specified by different standard methods, <i>European Journal of Biology</i> , 76, 1-5.
Şanlı N. Ö., Bal S., Menceloğlu Y., 2017, Antimic® treated air filters for indoor air quality, <i>International Conference on Civil and Environmental Engineering (ICOCEE- Cappadocia)</i> , 8-10 Mayıs 2017, Nevşehir, Türkiye, 2-2.
Şanlı N. Ö., Bal S., Menceloğlu Y., 2017, Antibacterial trash bags environmentally friendly litter management, <i>International Conference on Civil and Environmental Engineering (ICOCEE - Cappadocia)</i> , 8-10 Mayıs 2017, Nevşehir, Türkiye, 5-5.
Şanlı N. Ö., Bal S., Menceloğlu Y., 2017, Antibacterial seat fabric for construction, <i>International Conference on Civil and Environmental Engineering (ICOCEE- Cappadocia)</i> , 8-10 Mayıs 2017, Nevşehir, Türkiye, 6-6.

- Şanlı N. Ö., Bal S., Satıcı H., Menceloğlu Y., 2017, Antibacterial UV resistant, nonleaching polymeric paint, *International Conference on Civil and Environmental Engineering (ICOCEE - Cappadocia)*, 8-10 Mayıs 2017, Nevşehir, Türkiye, 1-1.
- Menceloğlu Y., Şanlı N. Ö., Bal S., 2017, Antimic Applied Antibacterial Medical And Fabric Wound Bandage By Sol-Gel Technique, *Egemeditex 2017 [3rd International Congress on Healthcare and Medical Textiles]*, 25-28 Ekim 2017, İzmir, Türkiye, 1 (1), 45-46.
- Şanlı N. Ö., Menceloğlu Y., Bal S., 2016, Antimic® ile İşlenmiş Antibakteriyel Seramik Örneklerinin Kalıcı Aktivitesinin Kantitatif Olarak EPA Protokol # 01-1A* Yöntemi ile Belirlenmesi, *3. Uluslararası Biyosidal Kongresi*, 22-25 Kasım 2016, Antalya, Türkiye, 1 (1), 1-1.
- Şanlı N. Ö., Menceloğlu Y., Bal S., 2016, *Acinetobacter baumannii*, Metisiline Dirençli *Staphylococcus aureus*, Vankomisine Dirençli *Enterococcus faecium* Bakterilerine Karşı Antimic® Biyositininin Etkinliğinin Farklı Standart Yöntemler ile Belirlenmesi", *3. Uluslararası Biyosidal Kongresi*, 22-25 Kasım 2016, Antalya, Türkiye, 1 (1), 1-1.
- Şanlı- Yürüdü N. Ö., Menceloğlu Y., Bal S., 2015, Legionella Bakterilerinin Kontrolü için Antimikrobiyal Kaplı Havalandırma Filtreleri, *Uluslararası Katılımlı 2. Ulusal Biyosidal Kongresi*, 9-13 Kasım 2015, İzmir, Türkiye, 130-130.
- Şanlı- Yürüdü N. Ö., Bal S., Menceloğlu Y., 2015, Sol-Jel Teknolojisi ile Antimic® Uygulanmış Çorap Örneklerinin Antibakteriyel Etkinliğinin Değerlendirilmesi, *Uluslararası Katılımlı 2. Ulusal Biyosidal Kongresi*, 9-13 Kasım 2015, İzmir, Türkiye, 215-215.